



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“FORMULACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR A BASE DE
EXTRATO DE MAÍZ (*Zea mays*) Y DETERMINACIÓN DE SU
CALIDAD”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar al grado académico de

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: JOHANNA PAOLA MORALES ACOSTA

TUTORA: Dra. SUSANA ABDO L., M.Sc

Riobamba- Ecuador

2018

©2018, Johanna Paola Morales Acosta

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho del autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de trabajo de titulación certifica que: el trabajo de Titulación de Tipo Experimental: “FORMULACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR A BASE DE EXTRATO DE MAIZ (*Zea mays*) Y DETERMINACIÓN DE SU CALIDAD” de responsabilidad de la señorita Johanna Paola Morales Acosta, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Susana Abdo L., M.Sc.

**DIRECTOR DE TRABAJO
DE TITULACIÓN**

16-05-2018

BQF. Aída Miranda.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

16-05-2018

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Johanna Paola Morales Acosta, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación

Riobamba, 16 de Mayo del 2018

Johanna Paola Morales Acosta

Cédula de Identidad 180508458-7

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Johanna Paola Morales Acosta, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados; expuestos en este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual del trabajo pertenece exclusivamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

JOHANNA PAOLA MORALES ACOSTA

DEDICATORIA

El presente trabajo de Titulación se lo dedico a Dios por darme la sabiduría que me ha llevado a culminar mi carrera profesional. A mis p adres y hermano, que siempre me apoyaron para cumplir mis metas, de especial manera a mi madre, pues ella fue el pilar fundamental para la construcción de mi vida profesional, que con su ejemplo forjó en mí el valor de la responsabilidad y deseos de superación. A Marcelo, que con amor me ha brindado su apoyo incondicional alentándome siempre a continuar.

Johanna Paola Morales A.

AGRADECIMIENTO

El agradecimiento más profundo a Dios por el don de la sabiduría y por poner en mi camino personas bondadosas que me apoyan.

A mis padres Esthela y Freddy por todo su esfuerzo para darme lo mejor, por su amor y apoyo durante estos años de estudio fuera de casa.

A mi familia por cada palabra de aliento y por ser el motor que me impulsa a superarme cada día más.

A Diana y Mayra ya que gracias a su amistad y conocimientos hemos formado un gran equipo logrando cumplir juntas este sueño.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme sus puertas convirtiéndose en mi segundo hogar; de aprendizaje y experiencias únicas.

Al grupo de investigación GIPRONAF y de manera especial a la Dra. Susana Abdo, y Bqf. Diego Vinuesa por todo el esfuerzo y tiempo dedicado al presente trabajo de investigación de igual forma a la Bqf. Aída Miranda por su aporte importante en la elaboración del mismo.

Johanna Paola Morales A.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
Csp	Cantidad suficiente para
EXA	Agencia Espacial Civil Ecuatoriana
DPPH*	2,2- difenil-1-picrilhidrazil libre
FPS	Factor de Protección Solar
g	gramo
HET-CAM	Hen's Egg Choriallantoic membrane test
mg	miligramo
min	minuto
mL	mililitro
nm	nanómetro
NIEHS	Instituto Nacional de Ciencias de Salud Ambiental de los Estados Unidos
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	partes por millón
ROS	Especies reactivas de Oxígeno
RUV	Radiación Ultravioleta
μL	microlitro
UV	ultravioleta
UVI	Índice Ultravioleta

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iv
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 Luz solar.....	4
1.2 Radiación UV y clasificación.....	4
1.2.1 <i>Interacción de la radiación UV y la piel</i>	4
1.3 Índice ultravioleta.....	5
1.4 Piel.....	6
1.4.1 <i>Fototipo</i>	7
1.5 Efectos biológicos en la Salud por exposición a la Radiación Ultravioleta.....	8
1.5.1 <i>Eritema</i>	8
1.5.2 <i>Bronceado</i>	8

1.5.3	<i>Quemadura Solar</i>	8
1.5.4	<i>Fotoenvejecimiento</i>	9
1.5.5	<i>Cáncer de piel</i>	9
1.6	Fotoprotección	9
1.7	Factor de protección solar	10
1.8	Fotoprotector tópico	10
1.8.1	<i>Clasificación de los Filtros UV</i>	10
1.9	Compuestos Fotoprotectores en Plantas	11
1.9.1	<i>Polifenoles</i>	12
1.9.2	<i>Flavonoides en plantas</i>	12
1.10	Fotoprotectores naturales	15
1.11	<i>Zea mays</i>	16
1.11.1	<i>Taxonomía</i>	16
1.11.2	<i>Descripción botánica</i>	17
1.11.3	<i>Usos medicinales</i>	17
1.11.4	<i>Plantas C4</i>	17
1.12	Aceites Vegetales	18

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	19
2.1	Lugar de Investigación	19
2.2	Localización y recolección de la droga vegetal	19

2.3	Equipos y reactivos para el control de calidad fisicoquímico y estudio fitoquímico.....	19
2.4	Preparación de la muestra.....	20
2.5	Control de calidad de la droga vegetal.....	20
2.5.1	<i>Análisis del contenido de humedad.....</i>	20
2.5.2	<i>Análisis del contenido de cenizas totales.....</i>	20
2.5.3	<i>Determinación del contenido de cenizas solubles en agua.....</i>	21
2.5.4	<i>Determinación del contenido de cenizas Insolubles en Ácido clorhídrico</i>	21
2.6	Estudio fitoquímico de la droga vegetal.....	22
2.7	Elaboración de extractos.....	22
2.8	Medición del FPS <i>in vitro</i>.....	23
2.9	Control de calidad del extracto etanólico de <i>Zea mays</i>.....	25
2.9.1	<i>Ensayos Organolépticos.....</i>	25
2.9.2	<i>Densidad relativa.....</i>	25
2.9.3	<i>Índice de refracción.....</i>	25
2.9.4	<i>Medición del pH.....</i>	26
2.10	Determinación de la actividad fotoprotectora del extracto etanólico	26
2.10.1	<i>Análisis del contenido de flavonoides totales.....</i>	26
2.10.2	<i>Análisis del contenido de fenoles totales.....</i>	26
2.10.3	<i>Determinación de la capacidad antioxidante.....</i>	27
2.11	Determinación de la seguridad del extracto etanólico de hojas de <i>Zea mays</i>	28
2.11.1	<i>Prueba de irritación ocular in vitro (HET-CAM)</i>	28
2.12	Barrido espectrofotométrico del extracto etanólico de hojas de <i>Zea mays</i>	29

2.13	Formulación de cremas Fotoprotectoras.....	29
2.14	Determinación de la efectividad de las formulaciones.....	30
2.14.1	<i>Determinación del factor de protección solar in vitro de las cremas.....</i>	30
2.15	Determinación de la seguridad de la crema fotoprotectora.....	31
2.15.1	<i>Prueba de tinción de la membrana corioalantoidea (CAM-TBS)</i>	31
2.16	Control de calidad de la crema fotoprotectora.....	32
2.16.1	<i>Medición del pH de la crema fotoprotectora.....</i>	32
2.16.2	<i>Determinación del olor de la crema fotoprotectora.....</i>	32
2.16.3	<i>Determinación del color de la crema fotoprotectora.....</i>	32
2.16.4	<i>Determinación de la presencia de grumos de la Crema Fotoprotectora</i>	33

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	34
3.1	Control de calidad de la materia vegetal.....	34
3.1.1	Ensayo de humedad.....	34
3.1.2	Determinación de cenizas totales.....	34
3.1.3	Determinación de Cenizas solubles en H₂O.....	35
3.1.4	Determinación de Cenizas insolubles en HCl.....	35
3.2	Estudio fitoquímico de la droga vegetal.....	35
3.3	Determinación del FPS de los extractos de las hojas de <i>Zea mays</i>.....	36
3.4	Factor de protección solar in vitro extracto etanólico de hojas de <i>Zea mays</i>	39
3.5	Control de calidad del extracto etanólico.....	40

3.5.1	Características organolépticas.....	40
3.5.2	Parámetros físicos.....	40
3.5.3	Contenido de Flavonoides totales.....	41
3.5.4	Contenido de Fenoles totales.....	42
3.5.5	Actividad antioxidante.....	44
3.6	Seguridad del extracto etanólico de hojas de <i>Zea mays</i>	45
3.6.1	Prueba de Irritación ocular HET-CAM.....	45
3.7	Barrido espectrofotométrico.....	46
3.8	Eficacia de las formulaciones fotoprotectoras.....	47
3.8.1	Factor de protección solar de las Formulaciones.....	47
3.9	Formulación del Protector solar FPS 30.....	48
3.10	Seguridad de Cremas fotoprotectoras a base de extracto etanólico de hojas de <i>Zea mays</i>	49
3.10.1	<i>Prueba de membrana corioalantoidea-tinción con azul tripán HET-CAM TBS...</i>	49
3.11	Control de calidad de Cremas Fotoprotectoras.....	50
3.11.1	<i>Medición del ph de la crema fotoprotectora.....</i>	50
3.11.2	<i>Determinación del olor de la crema Fotoprotectora.....</i>	50
3.11.3	<i>Determinación del color de la crema Fotoprotectora.....</i>	50
3.11.4	<i>Determinación de la presencia de grumos en la crema fotoprotectora.....</i>	51
	CONCLUSIONES	52
	RECOMENDACIONES.....	53
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Clasificación del FPS según COLIPA	10
Tabla 2-1. Clasificación científica de <i>Zea mays</i>	16
Tabla 1-2. Solventes y disolventes usados en el ensayo para cada extracto de <i>Zea mays</i>	23
Tabla 2-2. Correlación entre el efecto eritemogénico (EE) y la intensidad de radiación en cada longitud de onda.....	24
Tabla 3-2. Categoría de Irritación ocular de acuerdo al rango HET-CAM.....	29
Tabla 4-2. Formulaciones Fotoprotectoras a base de extracto de <i>Zea mays</i>	29
Tabla 5-2. Clasificación de las sustancias de acuerdo al potencial irritante determinado por el método CAM-TBS	32
Tabla 1-3. Ensayos del control de calidad de las hojas de <i>Zea mays</i>	34
Tabla 2-3. Resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de hojas de <i>Zea mays</i>	36
Tabla 3-3. Resultados del cálculo de FPS a distintas concentraciones de los extractos de <i>Zea mays</i>	37
Tabla 4-3. Factor de protección solar in vitro del extracto etanólico al 96% ND de <i>Zea mays</i>	39
Tabla 5-3. Parámetros organolépticos del extracto etanólico al 96% de <i>Zea mays</i>	40
Tabla 6-3. Parámetros físicos del extracto etanólico al 96% de <i>Zea mays</i>	40
Tabla 7-3. Absorbancias del estándar de Quercetina	41
Tabla 8-3. Contenido de Flavonoides totales en hojas de <i>Zea mays</i>	41
Tabla 9-3. Absorbancias del estándar de ácido gálico	42
Tabla 10-3. Contenido de Fenoles totales en hojas de <i>Zea mays</i>	43
Tabla 11-3. Porcentaje de captación del radical libre DPPH* del extracto etanólico de <i>Zea mays</i>	44
Tabla 12-3. Índice de Irritación ocular para el extracto etanólico de <i>Zea mays</i>	45

Tabla 13-3. Factor de protección de solar de las formulaciones fotoprotectoras y su Nivel de protección.....	47
Tabla 14-3. Formulaci3n (1) Protector solar FPS 30	48
Tabla 15-3. Resultados del ensayo HET-CAM TBS y su clasificaci3n.....	49
Tabla 16-3. Parámetros organolépticos y físicos de la crema Fotoprotectora.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1	Penetración de la radiación Ultravioleta en la piel	5
Figura 2-1	Categorías de exposición a la radiación Ultravioleta	5
Figura 3-1	Representación esquemática de la piel.....	7
Figura 4-1	Clasificación y características de los Fototipos.....	7
Figura. 5-1	Estructura Básica de los Flavonoides	13
Figura. 6-1	Estructura de los Flavanos.....	14
Figura. 7-1	Estructura de las Flavonas.....	14
Figura. 8-1	Estructura de los Flavonoles	15
Figura. 9-1	Estructura de las Antocianidinas	15
Figura 10-1	<i>Zea mays</i>	16

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3	Factor de protección solar de los distintos extractos de Zea mays	38
Gráfico 2-3	Curva de calibración para determinar la concentración de extracto	39
Gráfico 3-3	Curva de calibración de Quercetina.....	41
Gráfico 4-3	Curva de calibración de Ácido gálico.....	43
Gráfico 5-3	Barrido espectrofotométrico del extracto etanólico de Zea mays.....	46
Gráfico 6-3	Comparación el Factor de protección solar de las distintas formulaciones	47

RESUMEN

En la presente investigación, se desarrolló una formulación de un protector solar a base de extracto de maíz (*Zea mays* L.) y se determinó su efectividad y seguridad *in vitro* y su calidad. Se realizó el control de calidad de la droga vegetal, con la determinación de humedad, cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico. El tamizaje fitoquímico permitió la detección cualitativa de componentes orgánicos de naturaleza fenólica en las hojas de *Zea mays*. El control de calidad del extracto etanólico de hojas de *Zea mays*, se determinó a través de parámetros organolépticos, físico-químicos, contenido de flavonoides y fenoles totales, se evaluó el factor de protección solar *in vitro* mediante la aplicación de la ecuación de Mansur, y su seguridad a través del ensayo de irritación ocular HET-CAM. Los resultados obtenidos en todas las pruebas demostraron el potencial del extracto etanólico de hojas de *Zea mays* para ser incluido en formulaciones fotoprotectoras. La crema fotoprotectora que presentó mejores características en cuanto al FPS, fue formulada a base de extracto etanólico de hoja de maíz y potenciada con aceite de oliva, obteniendo un nivel de protección según la OMS muy alto (FPS 30). La seguridad del protector solar se evaluó mediante la prueba de membrana corioalantoidea-tinción con azul tripán HET-CAM TBS, donde se determinó de manera cuantitativa su toxicidad catalogándola según COLIPA como no irritante. De esta manera se obtuvo la formulación de un protector solar a base de extracto de maíz que cumple con parámetros básicos; con el propósito de realizar posteriores estudios acerca de FPS *in vivo* y estabilidad del producto.

Palabras clave: <CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES>, <BIOQUÍMICA>, <FARMACOLOGÍA>, <COSMETOLOGÍA>, <PRODUCTOS NATURALES>, <FOTOPROTECCIÓN>, <IRRITACIÓN OCULAR>.

ABSTRACT

The following research has developed a formulation of a sunscreen based on corn extract (*Zea mays* L.) its effectiveness and safety *in vitro* also its quality were determined. The quality control of the vegetable drug was carried out, with the determination of humidity, total ashes, soluble in water and insoluble in hydrochloric acid. The photochemical screening allowed the qualitative detection of organic components of phenolic nature in the leaves of *Zea mays*. The quality control of the ethanolic extract of *Zea mays* leaves was determined through organoleptic, physico-chemical parameters, flavonoid content and total phenols, the *in vitro* sun protection factor was evaluated through applying Mansur equation, and its safety was also evaluated through the HET-CAM eye irritation test. The results obtained in all the tests demonstrated the potential of the ethanolic extract of *Zea mays* leaves in order to be included in photoprotective formulations. The photoprotective cream showed better characteristics in terms of “FPS”, it formulated a base of corn leaf ethanolic extract and enhanced with olive oil, obtaining a very high level of protection according to the “OMS (FPS 30)”. The safety of the sunscreen was evaluated through the usage of chorioallantoid-staining membrane test with trypan blue “HET-CAM TBS”, where its toxicity was quantitatively determined by cataloging it according to “COLIPA” as non-irritant. In this way, it was obtained the formulation of a sunscreen based on corn extract that meets basic parameters, in order to carry out further studies based on “FPS” *in vivo* and stability of the product.

Key words: <EXACT AND NATURAL SCIENCES>, <BIOCHEMISTRY>, <PHARMACOLOGY>, <COSMETOLOGY>, <NATURAL PRODUCTS>, <PHOTOPROTECTION>, <OCULAR IRRITATION>.

INTRODUCCIÓN

La radiación ultravioleta (UV) de la luz solar es una amenaza ambiental para el cuerpo humano, y específicamente para la piel, al ser el órgano más extenso del cuerpo y cumplir funciones importantes de protección frente agentes externos. La exposición continua durante toda la vida a esta radiación bioquímicamente activa tiene efectos profundos en la piel, con un gran impacto en la salud. La piel posee un repertorio diverso de respuestas específicas para minimizar el daño de esta toxina ambiental especialmente dañina. A pesar de esto, la exposición a los rayos UV es una causa importante no solo de cáncer sino también de otras enfermedades de la piel, como envejecimiento prematuro; problemas de salud que están relacionados directamente con la formación de (ROS) (Cristina et al, 2016, a.p.251)

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se forman cuando el oxígeno da productos agrupados por acción de las radiaciones electromagnéticas, los seres vivos al poseer un sistema biológico con alto contenido de oxígeno son propensos a esta reacción de oxidación que si no es controlada por el sistema endógeno de antioxidantes, afectan el estado redox de las células y generan daños en los tejidos a lo que se denomina: estrés oxidativo. (AM Ferramola de Sancovich, 2013, p. 113)

De acuerdo a un informe presentado por la Agencia espacial civil ecuatoriana, nuestro país, debido a su ubicación geográfica, soporta índices de radiación solar superiores a los límites establecidos por la OMS; 11 UVI (Índice Ultravioleta) para la salud humana. Los datos del año 2008, detectaron niveles de radiación de 14 UVI en la ciudad de Guayaquil y 24 para la capital del Ecuador, por lo cual su principal recomendación es el uso de protectores solares con un alto índice de protección UV. (Ecuatoriana, 2008, p.45)

En el décimo informe sobre carcinógenos presentado por el Instituto nacional de ciencias de salud ambiental (NIEHS) de los Estados Unidos, se incluye a la radiación ultravioleta como un nuevo carcinógeno por su asociación con el cáncer de piel y melanoma. (National 2003) En Ecuador el cáncer de piel ocupa el segundo lugar dentro de los más frecuentes tanto en hombres como en mujeres, esto se puede deber a que en los últimos años se ha mejorado la calidad del diagnóstico y se debe tomar en cuenta que el número de casos puede incrementar por la ubicación geográfica de nuestro país que nos convierte en zona de alto riesgo.(SOLCA 2017)

Los filtros UV, usados en la mayoría de productos cosméticos como: 4-metilbenciliden-alcanfor (4-MBC), octil-metoxicinamato (OMC) y benzofenona 2 y 3 (BP2, BP3) tienen propiedades de alteración hormonal, por lo que se les considera como potenciales disruptores endócrinos en vertebrados. Las benzofenonas son un grupo de productos químicos utilizados en una amplia gama de cosméticos debido a sus propiedades de absorción de UV; estos compuestos químicos se están prohibiendo en distintos países debido a que no solo afectan a los seres humanos sino también al medio ambiente ya que se ha demostrado que descomponen los arrecifes de coral al filtrar sus nutrientes e interrumpen el desarrollo de los peces y la vida marina. (Krause et al. 2018)

Debido a preocupaciones recientes con respecto a la toxicidad de los cosméticos sintéticos, los productos a base de extractos vegetales han llegado al centro de atención de la cosmetología, relacionando a los productos naturales con salud, bienestar y belleza. Hoy en día todo lo natural se valora mejor ya que produce mayores beneficios tanto en la eficacia, como en la conservación de la salud al evitar los efectos secundarios posibles. (Ferraro et al, 2015, p.16-19)

La foto-protección a través del uso de antioxidantes vegetales para protección de la piel por el daño producido por la radiación UV, ha ido adquiriendo un creciente interés en cuanto a investigación en los últimos años. La capacidad de los componentes antioxidantes de ciertas especies de plantas como son los poli fenoles y entre ellos principalmente los Flavonoides, tiene el poder de reducir el daño a la piel inducido por la radiación UV, con la ventaja de no interferir en la producción de vitamina D.(Gilaberte y Gonza, 2010, p. 3-7)

La capacidad antioxidante de *Zea mays* ha demostrado que los extractos de hojas de esta especie, es una fuente muy rica de antioxidantes cuando son recolectadas a temprana edad luego de su germinación llegando a proteger eficazmente a células eucariotas del estrés oxidativo. (Balasubramanian y Palghat, 2013, p. 83-92)

La actividad foto protectora del extracto hidroalcoholico liofilizado de maíz (*Zea mays* L.) a distintas concentraciones para una potencial utilización como filtro UV, se ha determinado a través del método de muerte celular inducida; dando a conocer resultados favorables en la cuantificación de flavonoides, en el factor de protección y en actividad antioxidante del mismo para la elaboración de productos fitoquímicos. (Barrera 2017)

Esta investigación tiene como objetivo, la formulación de un protector solar a base de extracto de maíz (*Zea mays*) y la determinación de su calidad en cuanto al factor de protección (Efectividad), determinación de aspectos físicos de la emulsión e irritabilidad ocular asociada a daño celular (Seguridad).

Esta investigación, a través de la formulación de un protector solar eficiente, seguro y de calidad podría aportar a la prevención de enfermedades a la piel causadas por la exposición a la radiación ultravioleta, contribuyendo a mejorar la calidad de vida de la población y por ende dando cumplimiento al objetivo 3 del Plan Nacional del Buen Vivir estipulado en la Constitución.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Luz solar

La luz solar es el conjunto de radiaciones electromagnéticas emitidas por el Sol. El espectro de la radiación solar va desde el infrarrojo hasta el ultravioleta (UV). No toda la radiación solar alcanza la superficie de la Tierra, ya que las ondas ultravioletas más cortas son absorbidas por los gases de la atmósfera.

Las radiaciones electromagnéticas difieren en sus longitudes de ondas (λ). La energía lumínica es transmitida en unidades individuales o fotones tomando en cuenta que los fotones de menor longitud de onda son los de mayor energía. (Salazar, 2017, p.9)

1.2 Radiación UV y clasificación

Las radiaciones ultravioletas (UV), es la porción de luz solar con una longitud de onda de 200 - 400 nm que no es visible al ojo humano y pueden dividirse en: UVA (λ 315 - 400 nm); UVB (λ 280 - 315 nm) y UVC (λ < 280 nm) (Ferramola de Sancovich 2013). La radiación UVC es completamente absorbida por el ozono estratosférico y por lo tanto no llega a la superficie Terrestre. La radiación UVB llega a la superficie de la Tierra, representando más del 5% de la radiación UV y causa efectos mayores a los de la radiación UBA, teniendo picos altos sobre todo al mediodía. Mientras q la radiación UBA, permanece constante durante todo el día.(Young 2017)

1.2.1 Interacción de la radiación UV y la piel

La radiación Ultravioleta, tiene la capacidad de incidir sobre la piel para producir una serie de efectos degenerativos ya sea a corto a largo plazo. La intensidad de los efectos provocados dependen de la clase de radiación y de los factores como época del año, radiación indirecta latitud, que la modifican y también depende del fototipo de piel.(Guerra 2018). Por esta razón es importante conocer la capacidad de penetración de la radiación ultravioleta en la piel.

Como se puede apreciar en la Figura 1-1, la radiación UV-B que es más energética solo penetra la epidermis, mientras la radiación UB-A supera la dermis. Las radiaciones de la luz visible y la luz Infrarrojo tienen una gran capacidad de penetración llegando al tejido sub-cutáneo pero afortunadamente tienen bajos niveles energéticos. (León, 2014, p.4-5)

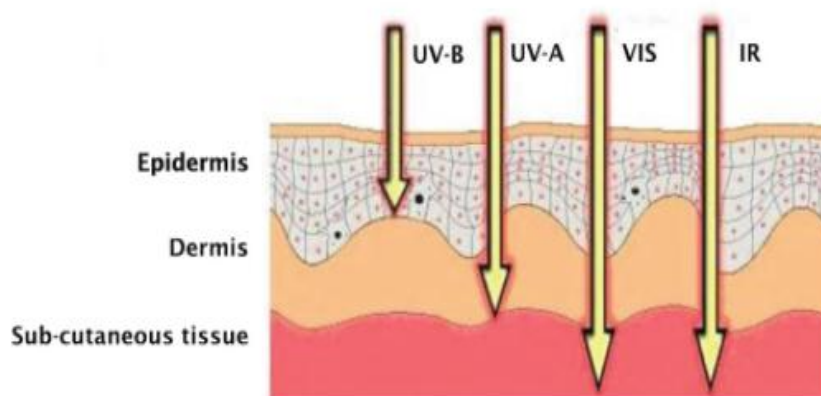


Figura 1-1 Penetración de la radiación Ultravioleta en la piel

Fuente: (León, 2014, p.4-5)

1.3 Índice ultravioleta

El Índice Ultravioleta es una expresión estandarizada y acordada internacionalmente para describir los niveles de radiación ultravioleta eritémica, con la finalidad de mantener informada a la comunidad y tomar actitudes de prevención, tomando en cuenta la incidencia de casos de cáncer de piel en todo el mundo, creando conciencia y alertando a la población en general sobre los peligros de la exposición excesiva a la radiación ultravioleta.

El índice Ultravioleta describe los niveles de radiación UV en una escala que toma el valor de 1 como IUV bajo, es decir que es posible exponerse sin protección, hasta un valor de 11 considerado peligrosamente alto, por lo que requiere de extrema protección. (Cañarte et al., 2011, p. 15)

CATEGORÍA DE EXPOSICIÓN	INTERVALO DE VALORES DEL IUV
BAJA	<2
MODERADA	3 A 5
ALTA	6 A 7
MUY ALTA	8 A 10
EXTREMADAMENTE ALTA	11+

Figura 2-1 Categorías de exposición a la radiación Ultravioleta

Fuente: (OMS 2013)

1.4 Piel

La piel es la principal barrera para la absorción sistémica de productos químicos aplicados tópicamente y un portal para la administración sistémica de medicamentos transdérmicos. Debido a su gran área de superficie y la circulación cutánea, que comprende el 5-10% del gasto cardíaco total, la piel es una ruta principal de entrada al cuerpo para algunos escenarios de exposición. Como tal, la piel proporciona una barrera robusta y flexible a las sustancias tóxicas no deseadas y microorganismos patógenos, a la pérdida de agua y nutrientes y responde a las fuerzas mecánicas (elasticidad y amortiguación). La defensa y reparación de la piel incluye tacto, dolor y sensibilidad al calor, protección UV, metabolismo cutáneo, actividad inmunológica y respuesta inflamatoria frente a agentes extraños. (Tsakovska et al., 2017, p. 27-28)

La piel es un órgano heterogéneo que contiene varias capas celulares, divididas en distintas regiones (Figura 3.1). La epidermis es la región externa del origen ectodérmico embrionario, que cubre el tejido conectivo, mientras que la dermis y la hipodermis se derivan del mesodermo. La epidermis tiene varias capas con el siguiente orden desde la superficie externa hacia el interior: estrato córneo (SC, capa córnea), estrato lúcido (capa transparente), estrato granuloso (capa granular), estrato espinoso (capa espinosa o prickle) y estrato germinativo (capa basal). La mayoría de las células en la epidermis son queratinocitos, formados por diferenciación y migración de la capa basal metabólicamente activa..(Tsakovska et al., 2017, p. 28)

Las células de la capa basal de la epidermis actúan como células madre, garantizando la regeneración de la piel gracias a la división celular, mediante la cual las células hijas se desplazan hacia la capa exterior con diferentes etapas de desarrollo. En esta capa se encuentran los melanocitos, que son las células responsables de la pigmentación.

Los rayos ultravioletas (UV) estimulan a los melanocitos para que produzcan melanosomas de forma más rápida, favorecen el engrosamiento e inducen el bronceado de la piel; estos dos factores son los responsables de la defensa parcial contra la radiación posterior. La melanina es una sustancia que evita en gran medida la aparición de quemaduras solares, pero no impide los daños que, a mediano y largo plazo, ejercen los rayos del sol sobre la piel. Por lo tanto, ser mestizo o negro no es garantía de protección absoluta a los efectos nocivos de este.(Mora et al. 2010)

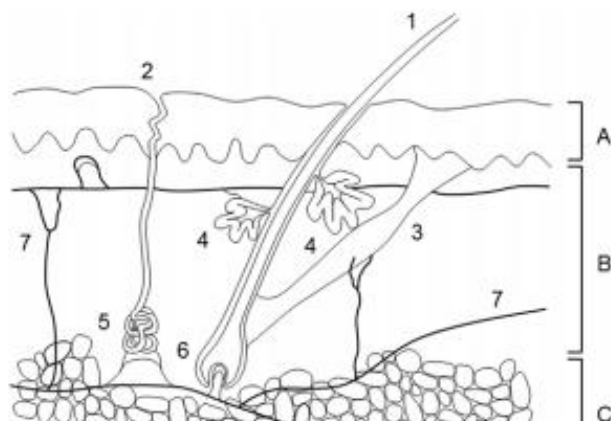


Figura 3-1 Representación esquemática de la piel

Fuente: (Tsakovska et al. 2017)

1.4.1 Fototipo

Se define como Fototipo a la capacidad de cada persona desde su nacimiento para adaptarse a la radiación solar, es decir las características de su piel, que permiten su pigmentación. Los efectos de la radiación Ultravioleta en la piel serán más notorios mientras más baja sea la capacidad de adaptación. (Marín y Del Pozo, 2005, p. 136)

	Acción del sol sobre la piel (no protegida)	Características pigmentarias
Fototipo I	Presenta intensas quemaduras solares, casi no se pigmenta nunca y se descama de forma ostensible	Individuos de piel muy clara, ojos azules, pelirrojos y con pecas en la piel. Su piel, habitualmente, no está expuesta al sol y es de color blanco-lechoso
Fototipo II	Se quema fácil e intensamente, pigmenta ligeramente y descama de forma notoria	Individuos de piel clara, pelo rubio, ojos azules y pecas, cuya piel, que no está expuesta habitualmente al sol, es blanca
Fototipo III	Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente	Razas caucásicas (europeas) de piel blanca que no está expuesta habitualmente al sol
Fototipo IV	Se quema moderada o mínimamente y pigmenta con bastante facilidad y de forma inmediata al exponerse al sol	Individuos de piel morena o ligeramente amarronada, con pelo y ojos oscuros (mediterráneos, mongólicos, orientales)
Fototipo V	Raramente se quema, pigmenta con facilidad e intensidad (siempre presenta reacción de pigmentación inmediata)	Individuos de piel amarronada (amerindios, indostánicos, árabes e hispanos)
Fototipo VI	No se quema nunca y pigmenta intensamente (siempre presentan reacción de pigmentación inmediata)	Razas negras

Figura 4-1 Clasificación y características de los fototipos

Fuente: (Marín y Del Pozo 2005)

1.5 Efectos biológicos en la Salud por exposición a la Radiación Ultravioleta

La Radiación UV es responsable de una amplia variedad de efectos agudos y crónicos en la piel. Las respuestas agudas de la piel humana a la RUV incluyen eritema o quemaduras y bronceado. Los efectos crónicos de UVR incluyen el fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis, que se considera inducida por mutación e inmunosupresión. (Brenner y Hearing, 2009, p. 540)

La radiación que estimula el bronceado es la UVB, por lo tanto este tipo de radiación también es la causante de las quemaduras solares. La radiación UVA, debido a que penetra más profundamente la piel (dermis) y no causa dolor se considera más peligrosa; llegando a ser la responsable del envejecimiento prematuro de la piel. Juntas las radiaciones UVB Y UVA, en exposiciones repetitivas y a largo plazo tienen la capacidad de causar alteraciones en el ADN de las células cutáneas, provocando el desarrollo de cáncer de piel.(Salazar, 2017, p.12)

1.5.1 Eritema

El eritema es un efecto agudo causado por la exposición a la radiación ultravioleta, se caracteriza por un enrojecimiento en la piel. Esta respuesta es inducida principalmente por la radiación UVB y se la asocia también con un aumento en el flujo sanguíneo y en la sensibilidad a ciertos estímulos como mecánicos y térmicos.(OMS 2013)

La Dosis Eritémica Mínima (DEM) describe la capacidad de la radiación solar para producir un eritema sin exposición previa, tomando en cuenta que ésta depende también de la sensibilidad a la radiación que posee cada individuo debido a la protección propia de la piel a través de la pigmentación.(Cañarte et al. 2011)

1.5.2 Bronceado

El bronceado de la piel es un proceso que a pesar de involucrar longitudes de onda similares al eritema, éste es una respuesta protectora, y por eso no es tan perjudicial como una quemadura solar. Sin embargo, la exposición excesiva, a niveles de radiación más bajos, conduce a cambios permanentes en la estructura de la piel, involucrando por ejemplo el endurecimiento del estrato córneo. (Cañarte et al. 2011)

1.5.3 Quemadura Solar

La Quemadura es una respuesta e Organismo a la radiación Ultravioleta con mayor complicación que el eritema ya que a más del enrojecimiento en la piel puede dar lugar a la acumulación de

fluidos, ampollas, que al cabo de un tiempo provoca descamación y puede terminar en una pigmentación residual. (OMS 2013)

1.5.4 Fotoenvejecimiento

El Fotoenvejecimiento es un término usado para describir al envejecimiento prematuro de la piel a causa de la exposición a la radiación Ultravioleta, ésta radiación destruye dos fibras importantes como son la elastina y el colágeno. Estos componentes le confieren a la piel elasticidad y mantienen su estructura, por lo tanto una exposición prolongada hace que piel se pierda su vitalidad natural, de lugar a la formación de arrugas y se vea menos joven.(Mora et al. 2010)

1.5.5 Cáncer de piel

El cáncer de piel es un proceso complejo desencadenado principalmente por la radiación UV por medio de la exposición solar crónica. Esto conduce al daño en el ADN y a la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), que inician una respuesta inflamatoria que altera la estructura y la función celular. (Awad et al., 2018, p.2)

Las radiaciones que penetran la piel se enfrentan a un proceso propio de fotoprotección natural, que se da en la Epidermis donde se encuentra la melanina epidérmica y macromoléculas como el ADN nuclear. La melanina que actúa como un cromóforo tiene la capacidad de absorber las radiaciones, y las transforma en calor o las dispersa gracias a las reacciones de reducción y oxidación.

Cuando la piel se enfrenta a largas exposiciones, la radiación lesiona el ácido nucleico provocando la ruptura de las cadenas simples y dobles del ADN, afectando así a su síntesis y división celular, alterando así la información genética de las células epiteliales y produciendo una mutación que influye en la carcinogénesis. (Mora *et al.*, 2010, p. 829)

1.6 Fotoprotección

La fotoprotección es el conjunto de estrategias usadas para protegerse de los efectos dañinos de la radiación Ultravioleta, estas medidas son preventivas frente al cáncer de piel y fotoenvejecimiento y pueden ser medidas farmacológicas o naturales. (Cañarte et al. 2011) La fotoprotección farmacológica consiste en el uso de fotoprotectores o filtros solares que pueden ser de uso oral (a través de la dieta) o formulaciones tópicas. La fotoprotección farmacológica

puede ayudarse de una forma natural evitando el sol entre las 12 horas del mediodía y las 6 horas, con sombreros, vestimenta preferiblemente de algodón, gafas y sombrillas. (Guerra, 2018)

1.7 Factor de protección solar

El factor de protección solar es el poder que presenta un fotoprotector para reducir los efectos nocivos de la radiación sobre la piel o también se conoce como el cociente entre la dosis eritémica mínima de la piel protegida y la dosis eritematosa mínima de la piel sin protección. Es decir;

$$\text{FPS} = (\text{Tiempo con protección}) / (\text{Tiempo sin protección}) \quad (\text{Guerra, 2018, p. 2812})$$

Tabla 1-1. Clasificación del FPS según COLIPA

FPS	TIPO DE FOTOPROTECCIÓN
2-4-6	Bajo
8-10-12	Medio
15-20-25	Alto
30-40-50	Muy alto
50+	Ultra

Autor: Johanna Morales, 2018

Fuente: (Batlle 2005)

1.8 Fotoprotector tópico

Los protectores solares tópicos son preparaciones de aplicación cutánea en distintas presentaciones que presentan en su formulación ingredientes que detienen parcialmente la radiación UV, reduciendo de esta forma sus efectos deletéreos. Los filtros UV, son los componentes presentes en los fotoprotectores que tienen la capacidad de interactuar con la radiación incidente, por medio de tres mecanismos básicos: la reflexión, dispersión y la absorción. (Schalka y Silva, 2011, p. 507) Para que un filtro solar sea considerado apto para la protección de la piel debe cumplir condiciones como: eficacia, seguridad y versatilidad. (Cañarte et al. 2011)

1.8.1 Clasificación de los Filtros UV

1.8.1.1 Filtros Físicos

Los filtros físicos o inorgánicos son partículas de un tamaño considerable que a través de un mecanismo óptico, pueden dispersar o reflejar la radiación solar en la franja ultravioleta, visible o incluso infrarroja, generalmente son óxidos metálicos representados por el óxido de zinc y el

dióxido de titanio como los principales filtros usados habitualmente. Las características más sobresalientes de los filtros físicos son su elevada fotoestabilidad, que le permite actuar durante largos períodos de exposición a la radiación y su baja permeación cutánea. (Gilaberte y Gonza, 2010, p. 661)

1.8.1.2 Filtros Químicos

Los filtros químicos o también denominados como filtros orgánicos son moléculas aromáticas que interfieren en la radiación incidente a través del mecanismo de absorción ya que las moléculas actúan como cromóforos, captando la energía incidente y transformándola en otro tipo de energía que presenta una longitud de onda distinta, que sea inocua para la piel. Dependiendo de la capacidad de absorber longitudes de onda más cortas o más largas, los filtros orgánicos pueden ser subclasificados en filtros UVA, filtros UVB y filtros de amplio espectro (UVA y UVB). (Gilaberte y Gonza 2010)

Entre los filtros químicos más conocidos están los derivados del ácido para-amino benzoico (PABA), ácido sulfónico, ácido cinámico, alcanfor que actúan contra la radiación UVB y benzofenona, dibenzoilmetano que actúan frente a la radiación UVA. (Cañarte et al. 2011)

1.8.1.3 Filtros Biológicos

Los filtros biológicos son antioxidantes generalmente de origen botánico que evitan la creación de radicales libres, potenciando de este modo los progresos de inmunoregulación cutánea y antiinflamatorios. Éstos se están empleando cada vez con más profusión, siendo la vitaminas E y la Vitamina A las más utilizadas en forma de palmitato o acetato. (Cañarte et al. 2011) Estos compuestos presentan actividad para contrarrestar los efectos de la radiación Ultravioleta, ya que disminuyen la inflamación, el eritema, capturan los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno, por lo que son factibles de incorporarse a productos tópicos como coadyuvantes para la protección solar. (Tohge y Fernie, 2017, p. 4)

1.9 Compuestos Fotoprotectores en Plantas

Los extractos vegetales usados como filtros solares deben cumplir características como presentar una absorción de la radiación solar entre 290-320 nm, ser compatibles con excipientes usados en la formulación, poseer relativa estabilidad y no presentar toxicidad. Entre el grupo de compuestos que cumplen con estas características sobresalen los polifenoles entre ellos los flavonoides. (Lòpez, 2007, p. 67)

1.9.1 Polifenoles

Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas también conocidas como fenoles o compuestos fenólicos. Las categorías comunes de polifenoles incluyen catequinas, estilbenos, flavonoides, proantocianidinas, elagitaninos y antocianinas, cuya aparición natural en las plantas contribuye a los beneficios para la salud ya sea a través de las dietas o incluyendo extractos vegetales a productos naturales. Las principales fuentes de polifenoles dietéticos incluyen frutas, verduras, granos, té, aceites esenciales, así como sus alimentos, bebidas o suplementos derivados.

Estos polifenoles, particularmente aquellos provenientes de fuentes dietéticas, exhiben una amplia variedad de actividades biológicas beneficiosas. Se ha informado que tienen antioxidantes, antimicrobianos, antivirales, antimutagénicos, anticancerígeno, antiinflamatorio, acciones antiproliferativas y vasodilatadoras, después de la ingestión o aplicación tópica. Los estudios experimentales y epidemiológicos han sugerido que los polifenoles protegen la piel de los efectos adversos de la radiación ultravioleta (UV) gracias a su poder antioxidante que evita la formación de ROX, previniendo del daño a las células de la piel.(Hu *et al.*, 2017, p. 109)

1.9.2 Flavonoides en plantas

Desde la antigüedad se conoce la existencia de pigmentos en las plantas, que más tarde se identificaron como flavonoides, pero su estructura química no se identificó hasta el final del siglo XIX. En los primeros años del siglo XX, los flavonoides y sustancias relacionadas se caracterizaron químicamente en múltiples plantas y se sintetizaron en el laboratorio. El mayor interés se centró en su papel como pigmentos y la investigación se centró principalmente en la familia de antocianinas flavonoides. No fue hasta finales de la década de 1930 que Albert Szent-Györgyi centró su atención en los efectos de ciertos flavonoides en la salud humana.

La investigación con flavonoides desde la década de 1950 hasta la de 1980 fue relativamente limitada. Algunos químicos continuaron aislando estructuras químicas múltiples de las plantas y los bioquímicos analizaron sus efectos biológicos, especialmente en varias actividades enzimáticas de mamíferos. Las compañías farmacéuticas habían desarrollado ciertos flavonoides o extractos ricos en flavonoides y los médicos analizaron su valor potencial para la insuficiencia venosa crónica; sin embargo, se prestó poca atención al valor nutricional de los flavonoides, especialmente los presentes en los alimentos. A pesar de que su actividad biológica fue reconocida, al menos in vitro, las dudas sobre la capacidad de absorción de las preparaciones farmacéuticas de flavonoides administradas por vía oral condujeron al rechazo del registro oficial por parte de la FDA de los EE. UU.(Pérez y Fraga, 2018, p. 3-4)

La investigación ha experimentado un crecimiento impresionante en todos los campos de la ciencia en los últimos años. El número de publicaciones científicas ha aumentado continuamente desde la década de 1980 hasta la actualidad.

Hoy en día se conoce que los flavonoides son pigmentos que se encuentran de forma natural en los vegetales y tienen como función principal la protección del daño proveniente de agentes antioxidantes, principalmente de la radiación ultravioleta y la contaminación ambiental. Estos compuestos presentan en su estructura química grupos hidroxilo fenólicos que pueden variar en número, ésta característica los convierte en excelentes agentes quelantes de hierro y otros metales de transición, y por consiguiente compuestos con gran capacidad antioxidante. (Gilaberte y Gonza, 2010, p. 663-664)

La estructura de los flavonoides les concede la capacidad de actuar como antioxidantes ya que pueden donar hidrógenos, o electrones a los radicales libres. También pueden atrapar estos radicales y desplazarlos en su estructura aromática. Fig. 5.1

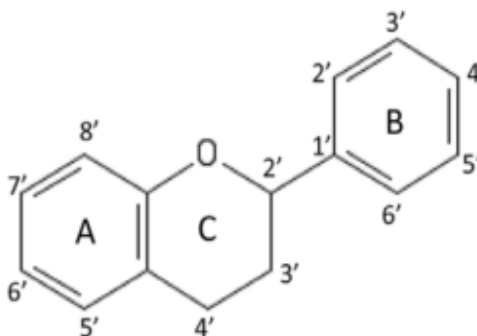


Figura. 5-1 Estructura Básica de los Flavonoides

Fuente: (Santhakumar, Battino y Alvarez 2018)

En función de su estructura los flavonoides se pueden clasificar en:

- Flavanos

Son compuestos activos biológicos cuyas propiedades les confiere actividad antioxidante, antiinflamatorio, antimicrobacteriano; además ayuda en la disminución del peróxido de Hidrógeno apoptótico. Su principal representante es la catequina. (Trivellini *et al.*, 2016, p. 244)

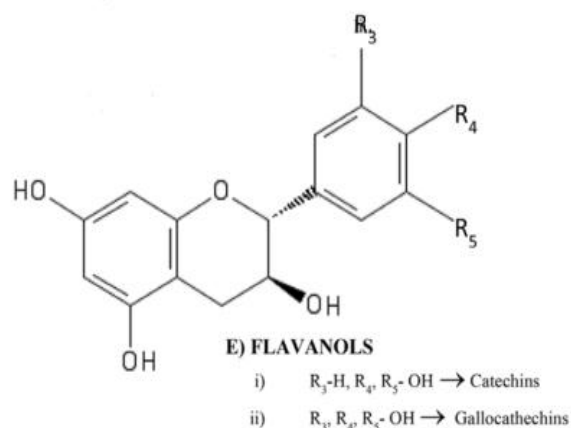


Figura. 6-1 Estructura de los Flavanos

Fuente: (Santhakumar, Battino y Alvarez, 2018, p. 53)

- Flavonas

Estos compuestos tienen actividad antibacteriana, anticancerígena, antioxidante antiinflamatorio, inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) y puede disminuir el peróxido de hidrógeno involucrado en el proceso apoptótico. La Flavonas sus usadas en el cuidado de la piel mediante su actividad de inhibición de la tirosinasa y anti-*Staphylococcus*. (Trivellini *et al.*, 2016, p. 245)

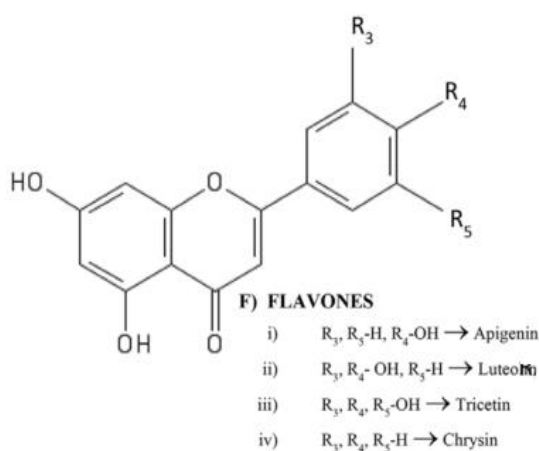


Figura. 7-1 Estructura de las Flavonas

Fuente: (Santhakumar, Battino y Alvarez, 2018, p. 53)

- Flavonoles

Compuestos con un fuerte potencial antioxidante e influencia en el sistema de metabolitos del glutatión; representados por quercetina, el flavonoide con propiedades antioxidantes más reconocidas. Los estudios relacionados a fotoprotección no se han desarrollado del todo, sin embargo formulaciones que contienen este componente han demostrado que pueden inhibir el daño producido por radiación ultravioleta en animales de experimentación. (Gilaberte y Gonza 2010)

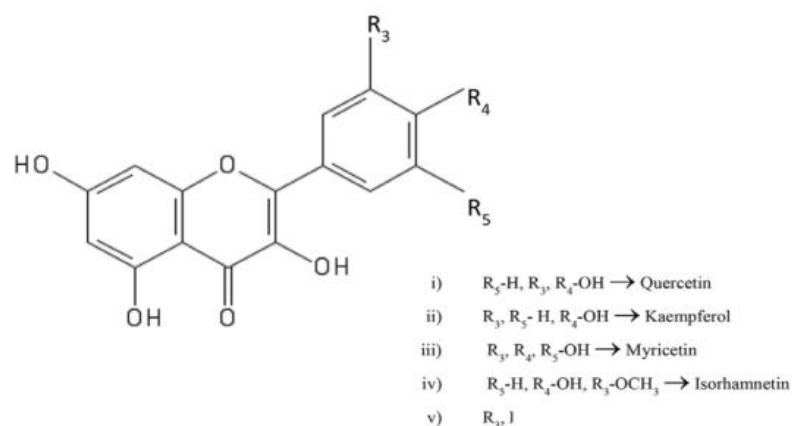


Figura. 8-1 Estructura de los Flavonoles

Fuente: (Santhakumar, Battino y Alvarez, 2018, p. 53)

- Antocianidinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidina, es decir, están constituidos por una molécula de antocianidina, conocida como la aglicona unida a un azúcar a través de un enlace glicosídico. Entre sus propiedades se destaca su poder antioxidante, anticancerígeno y para combatir alergias e infecciones. (Santhakumar, Battino y Alvarez, 2018, p. 52)

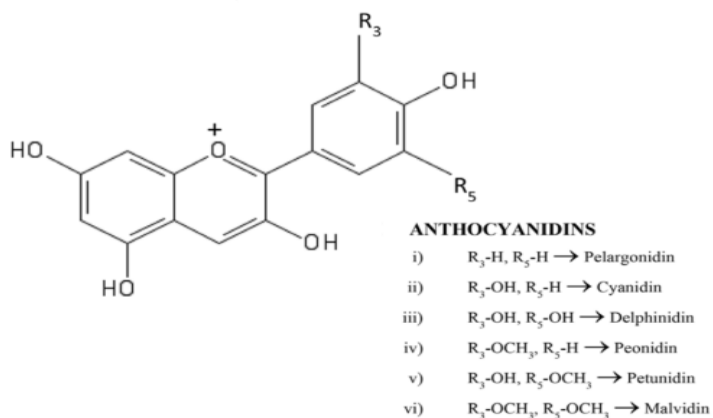


Figura. 9-1 Estructura de las Antocianidinas

Fuente: (Santhakumar, Battino y Alvarez, 2018, p. 53)

1.10 Fotoprotectores naturales

El campo de los productos para el cuidado de la piel y los cosméticos muestra un marcado interés en cosméticos naturales. La piel está ampliamente expuesta a varios contaminantes ambientales y radiaciones UV que causan daños en la membrana celular por oxidantes peligrosos. Por lo tanto,

la selección de sustancias protectoras entre compuestos naturales es un buen método para desarrollar agentes para el cuidado de la piel.(Tohge y Fernie 2017)

Los fotoprotectores naturales son preparados para uso tópico que presentan principios activos con la capacidad de filtrar radiaciones solares. Generalmente, son formulaciones en cremas, emulsiones, gel o aerosol.

1.11 Zea mays

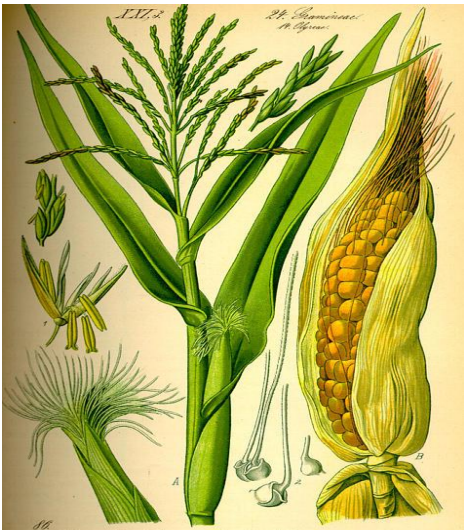


Figura 10-1 *Zea mays*

Fuente: (Thomé, 1885, p. 691)

1.11.1 Taxonomía

Tabla 2-1 Clasificación científica de *Zea mays*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Cyperales
Familia	Poaceae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>mays</i>
Nombre Científico	<i>Zea mays</i>

Autor: Johanna Morales, 2018

Fuente: (Ortega y Carril, 2014, p. 151-152)

1.11.2 Descripción botánica

El maíz es una planta anual, generalmente mide de 2 a 2,5m de altura y se ha evidenciado casos que llega a medir hasta los 5 metros. Sus raíces son fasciculadas y tienen como función el anclaje de la planta, en las raíces secundarias en algunos casos se pueden apreciar nudos a nivel del suelo. Presenta un tallo simple, con una longitud considerablemente elevada, consistencia robusta y con ausencia de ramificaciones y de entrenudos. En el corte transversal se puede observar una médula con apariencia esponjosa. Sus hojas son lanceoladas, largas y alternas, se encuentran envolviendo al tallo y en el haz poseen vellosidades. (Enriquez, 2014, p. 6-7). La inflorescencia femenina de la planta se forma en las yemas laterales y están cubiertas por hojas, mientras que la inflorescencia masculina está formada por una espiga en la parte central superior de la planta con ramificaciones laterales dónde se encuentran los granos de polen. (Ortega y Carril, 2014, p. 152-153)

1.11.3 Usos medicinales

El *Zea mays*, constituyó un alimento primordial en la época precolombina en América, demostrando propiedades medicinales ya que se utilizaba para disminuir la presión arterial. En la actualidad se ha considerado un alimento importante en la dieta por su composición rica en flavonoides, compuestos naturales cuyo consumo se relaciona con una baja incidencia de enfermedad cardíaca coronaria, ciertas formas de cáncer y aterosclerosis. En este contexto se le atribuye al maíz propiedades hipotensoras y antioxidantes. (Arroyo *et al.*, 2008, p. 195-196)

1.11.4 Plantas C4

En las plantas C4, como es caso del maíz, las actividades fotosintéticas se dividen entre las células del fascículo y las del mesófilo, lo que conduce a un aumento del rendimiento fotosintético, particularmente en condiciones de estrés.

Las especies de plantas se pueden clasificar como especies C3 o C4 en función del producto primario de la fijación de carbono en la fotosíntesis. El producto principal de la fijación de carbono es un compuesto de cuatro carbonos (oxalacetato; OAA) en plantas C4 pero un compuesto de tres carbonos (3-fosfoglicerato; 3-PGA) en plantas C3. Además, el aparato fotosintético en la mayoría de las plantas C4 está dividido en dos tipos de células diferentes, el mesófilo y las células de la envoltura del paquete. El transporte activo de carbono (en forma de ácidos orgánicos) desde las células del mesófilo hasta las células de envoltura y la expresión específica de rubisco en las células de envoltura permite que rubisco, (la enzima carboxilante en el ciclo de calvin), opere bajo altas concentraciones de CO₂. Estas mayores concentraciones de CO₂ suprimen la reacción de oxigenación de rubisco (foto respiración), lo que resulta en un

aumento del rendimiento fotosintético y un uso más eficiente del agua y el nitrógeno.(Ortega y Carril 2014)

1.12 Aceites Vegetales

El enfoque alternativo a los antioxidantes sintéticos es el uso de antioxidantes naturales, como tocoferol, extractos de plantas y aceites esenciales de hierbas y especias. Estos compuestos naturales y mezclas se han usado en la industria cosmética, terapéutica y alimentaria para la fabricación de productos antioxidantes.

En varios estudios se ha demostrado los efectos antioxidantes del aceite de oliva debido a su composición rica en fenoles, oleuropeína, luteolina e hidroxitirosol, entre otros. (Moudache et al. 2016)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de Investigación

El presente proyecto de investigación se realizó en los laboratorios de productos naturales y química instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH-Riobamba-Chimborazo).

2.2 Localización y recolección de la droga vegetal

La recolección del material vegetal se realizó en San Vicente-Tungurahua, aproximadamente a una altitud de entre 2600 y 3000 metros sobre el nivel del mar. (GAD Quero, 2018, p. 1). Las hojas de maíz (*Zea mays*), se recolectaron a pocas semanas de su germinación, ya que a temprana edad la planta poseen el contenido máximo de todos los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. (Balasubramanian, Devi y Raghunathan 2013)

2.3 Equipos y reactivos para el control de calidad fisicoquímico y estudio fitoquímico.

Tabla 1-2 Equipos y reactivos

Reactivos		Equipos
Agua destilada	Solución al 2% de Ninhidrina en agua	Balanza analítica
Alcohol 96%	Ácido clorhídrico concentrado	Estufa
Hexano	Magnesio metálico	Mufla
Cloroformo	Reactivo de Sudan III	Rotavapor
Éter etílico	Metanol	pH- metro
Reactivo de Dragendorff	Acetato de sodio	Picnómetro
Reactivo de Mayer	Cloruro férrico al 5%	Espectrofotómetro Cole Parmer S-21590
Reactivo de Baljet	Reactivo de Fehling	Refractómetro
Hidróxido de sodio		
Hidróxido de potasio		Congelador
Amonio al 5% en agua		Molino de cuchilla giratoria ArthurH,Tomas C.O.
Anhídrido acético		Desecador
Ácido sulfúrico concentrado		
Solución de carbonato de sodio		

Realizado por: Joanna Morales. 2018

2.4 Preparación de la muestra

Las hojas de *Zea mays* recolectadas, fueron seleccionadas, y pasaron por un proceso de limpieza, secado en estufa con ventilador a 40°C y triturado con la finalidad de facilitar los análisis de control de calidad de la droga vegetal.

2.5 Control de calidad de la droga vegetal

2.5.1 Análisis del contenido de humedad

Este ensayo fue llevado a cabo por medio del método gravimétrico descrito en, (Miranda y Cuéllar, 2012, p. 34), que se basa en la desecación de la droga vegetal con la finalidad de medir la pérdida de su masa.

- Se pesó en una cápsula de porcelana (previamente tarada) 2g de la droga vegetal seca y triturada.
- Luego se sometió la cápsula a una temperatura de 105 °C en la estufa durante 3 horas
- Transcurrido este tiempo se coloca la cápsula en el desecador, para mantener las condiciones ambientales optimas mientras se enfría a temperatura ambiente.
- Finalmente se pesó la cápsula en una balanza analítica.
- El proceso se repitió hasta obtener un valor en peso de masa constante.

El ensayo se realizó por triplicado. Y para el cálculo del contenido de humedad se aplicó la siguiente ecuación:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Dónde,

Hg: representa la pérdida de peso por desecación en porcentaje

M2: masa de la cápsula con la muestra de ensayo en gramos (g)

M1: masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada en gramos (g)

M: masa de la cápsula vacía

2.5.2 Análisis del contenido de cenizas totales

Las cenizas totales son residuos inorgánicos obtenidos por la incineración de una droga, a través de un análisis gravimétrico, fundamentado en la determinación de constituyentes por la diferencia de pesos. Para lo cual:

- Se pesó 2g de la droga vegetal en un crisol previamente tarado
- Se carbonizó la muestra
- Se incineró la muestra en la mufla a una temperatura de 700°C por dos horas.

- Transcurrido este tiempo se dejó enfriar la muestra en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente y se pesó
- Finalmente se repitió el proceso, dejando períodos de 30 minutos en la mufla, hasta obtener masa constante.

Para el cálculo de los resultados se usó la siguiente expresión:

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Dónde,

B: es el porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada

M: masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M2: masa del crisol con la ceniza (g)

2.5.3 Determinación del contenido de cenizas solubles en agua

En este ensayo se determina parte de las cenizas totales que pueden disolverse en el agua. Para lo cual;

- A las cenizas totales se añadió 15 mL de agua destilada
- Luego de tapar el crisol se dejó hervir por 5 minutos y se filtró el contenido
- El papel usado para filtrar se carbonizó en la mufla por dos horas a 700 °C
- El proceso se repitió hasta obtener masa constante

Los resultados se expresaron de la siguiente forma:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Dónde,

C: Porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M: masa del crisol vacío en (g)

M1: masa el crisol con la porción de ensayo en (g)

2.5.4 Determinación del contenido de cenizas Insolubles en Ácido clorhídrico

- A las cenizas totales se añadió 3mL de una solución de HCl al 10%
- Se tapó con vidrio reloj el crisol y se dejó a baño maría por 10 minutos
- Luego de tapar el crisol se dejó hervir por 5 minutos y se filtró el contenido
- El papel usado para filtrar se carbonizó en la mufla por dos horas a 700 °C
- El proceso se repitió hasta obtener masa constante

Los resultados se expresaron de la siguiente forma:

$$Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

Dónde,

Ca: porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

M₂: masa del crisol con las cenizas totales (g)

M_a: masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁: masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M: masa del crisol vacío

2.6 Estudio fitoquímico de la droga vegetal

El tamizaje fitoquímico, consiste en un conjunto de ensayos que permiten la detección cualitativa de grupos de compuestos orgánicos de interés investigativo en la droga vegetal a través de reacciones que dan lugar a la formación de coloraciones, precipitados, cambios de estado o temperatura, etc. Estos ensayos se caracterizan por ser sencillos, rápidos y selectivos para los metabolitos, extraídos con solventes de distinta polaridad en el orden; éter etílico, alcohol al 96% y agua destilada. (Miranda y Cuéllar 2012)

2.7 Elaboración de extractos

Se elaboraron cinco extractos a partir de las hojas secas de *Zea mays*, para lo cual se pesó 2g del material vegetal y se dejó macerar con cada uno de los solventes descritos en la tabla 2-2.

El extracto 1, se maceró con etanol al 96% por 48 horas en un frasco ámbar, se filtró el extracto en un vaso de peso conocido y se procedió a evaporar todo el solvente a baño maría a una temperatura no mayor a 60°C, finalmente se pesó nuevamente el vaso de precipitación y se realizó el cálculo para determinar la cantidad de extracto obtenido por diferencia de pesos. En la disolución para la medición del FPS se usó etanol al 96%

Para la preparación del extracto 2, se usó etanol al 96% en maceración por 48 horas en un frasco ámbar, se filtró el extracto en un vaso de peso conocido, se realizó el desengrasado realizando varias extracciones con hexano en un embudo de separación; hasta que el extracto presente una apariencia más transparente, luego se procedió a evaporar todo el solvente a baño maría a una temperatura no mayor a 60°C, finalmente se pesó nuevamente el vaso de precipitación y se realizó el cálculo para determinar la cantidad de extracto obtenido por diferencia de pesos. En la disolución para la medición del FPS se usó etanol al 96%

El extracto 3, se preparó con etanol al 70% por 48 horas en un frasco ámbar, se filtró el extracto en un vaso de peso conocido y se procedió a evaporar todo el solvente a baño maría a una temperatura no mayor a 60°C, finalmente se pesó nuevamente el vaso de precipitación y se realizó el cálculo para determinar la cantidad de extracto obtenido por diferencia de pesos. En la disolución para la medición del FPS se usó etanol al 70%

El extracto 4, se obtuvo usando como solvente acetato de etilo por 48 horas en un frasco ámbar, se filtró el extracto en un vaso de peso conocido y se procedió a evaporar todo el solvente a baño maría a una temperatura no mayor a 60°C, finalmente se pesó nuevamente el vaso de precipitación y se realizó el cálculo para determinar la cantidad de extracto obtenido por diferencia de pesos. En la disolución para la medición del FPS se usó etanol al 96%

El extracto 5, se preparó con acetato de etilo por 48 horas en maceración en un frasco ámbar, se filtró el extracto en un vaso de peso conocido y se procedió a evaporar todo el solvente a baño maría a una temperatura no mayor a 60°C, finalmente se pesó nuevamente el vaso de precipitación y se realizó el cálculo para determinar la cantidad de extracto obtenido por diferencia de pesos. En la disolución para la medición del FPS se usó acetato de etilo

Tabla 2-2 Solventes y disolventes usados en el ensayo para cada extracto de *Zea mays*

Extractos	Solvente para la elaboración del extracto	Tratamiento aplicado al extracto	Disolvente para la medición del FPS
1	Etanol al 96%	Ninguno	Etanol al 96%
2	Etanol al 96%	Desengrasado	Etanol al 96%
3	Etanol al 70%	Ninguno	Etanol al 96%
4	Acetato de etilo	Ninguno	Etanol al 96%
5	Acetato de etilo	Ninguno	Acetato de etilo

Realizado por: Joanna Morales. 2018

2.8 Medición del FPS in vitro

- Cada extracto se preparó a concentraciones de 20, 200, 400 y 500ppm, con los disolventes descritos en la tabla 2-2
- Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV Cole Parmer S-21590 usando celdas de cuarzo de 1 cm a un rango de longitud de onda de 290 a 320 nm, con intervalos de 5nm; es decir se midió a 290, 295, 300, 305, 310, 315 y 320 nm.

- El ensayo se realizó por triplicado y como blanco se usó cada uno de los disolventes usados para la preparación de la muestra para la medición del factor de protección, descritos en la tabla 2-2

Los datos de absorbancia obtenidos se aplicaron finalmente en la Ecuación de Mansur para calcular el Factor de protección Solar de cada uno de los extractos y concentraciones; eligiendo de este modo el extracto con mejores propiedades y FPS, para posteriores análisis y formulación del protector solar.

$$\text{FPS} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Donde:

EE (λ): Se refiere el espectro del efecto eritemal

I (λ): Es la intensidad del espectro solar

Abs (λ): Representa la absorbancia del producto con protección solar

CF es el factor de corrección igual a 10

Los valores de la relación entre el efecto eritemal y la intensidad de la radiación para cada longitud de onda EE (λ) × I (λ) son constantes como se indica a continuación. (Mansur *et al.*, 2016, p. 253)

Tabla 3-2 Correlación entre el efecto eritemogénico (EE) y la intensidad de radiación en cada longitud de onda

λ (nm)	EE(λ) x I (λ)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Fuente: (Mansur *et al.*, 2016, p. 253)

2.9 Control de calidad del extracto etanólico de *Zea mays*

Para el control de calidad del extracto etanólico de *Zea mays* se aplicaron ensayos organolépticos, densidad relativa, índice de refracción y medición del pH; de acuerdo al manual de Farmacognosia y Productos Naturales de Miranda.

2.9.1 Ensayos Organolépticos

Para la determinación del olor, se tomó una tira de papel filtro de 1 cm de ancho por 10 cm de largo, se introdujo un extremo en la muestra de ensayo y se percibió.

El color y aspecto del extracto se determinó llenando las tres cuartas partes de un tubo de ensayo con la muestra y observando.

2.9.2 Densidad relativa

- El picnómetro vacío y seco se pesó en una balanza analítica
- Se llenó el picnómetro con la porción de ensayo
- Finalmente se pesó cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repitió la operación con el agua destilada, después de limpiar el picnómetro

La expresión de los resultados se realizó con la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M₁: Peso del picnómetro con la muestra (g)

M₂: Peso del picnómetro con el agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

2.9.3 Índice de refracción

- Se realizó el ajuste del refractómetro con una gota de agua destilada
- Para la medición del extracto etanólico de hojas de *Zea mays*, se colocó una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición
- Posteriormente se cerró el termoprisma y se ajustó la luz por medio del espejo.

- Finalmente se tomó la medida.

2.9.4 Medición del pH

Para la medición del pH del extracto etanólico de *Zea mays*, se ajustó el pH-metro con la solución reguladora y posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra.

2.10 Determinación de la actividad fotoprotectora del extracto etanólico

2.10.1 Análisis del contenido de flavonoides totales

Este análisis se realizó por triplicado con un extracto etanólico de *Zea mays* preparado a 400 ppm

- En un tubo de ensayo se colocó 1mL de la muestra, 4 mL de agua destilada y 0,3 mL de solución de nitrato de sodio al 5% previamente preparada. Se agitó y se dejó reposar por 5 minutos.
- Al término del tiempo se añadió 0,3 mL de $AlCl_3$ al 10%, se vortizó por 1 minuto y se dejó reposar por 5 minutos
- Se colocó en el tubo 2 mL Hidróxido de sodio 1 molar, se vortizó por 15 segundos y se dejó en reposo; protegido de la luz y a temperatura ambiente por 15 minutos.
- Transcurrido este tiempo se procedió a registrar las absorbancias medidas en un espectrofotómetro UV Cole Parmer S-21590 usando celdas de cuarzo de 1 cm a una longitud de onda de 510 nm; usando como blanco una muestra preparada con las especificaciones descritas anteriormente sin añadir el extracto.
- Finalmente el contenido de flavonoides totales fueron expresados como miligramos equivalentes de quercetina por gramo de planta (mg EQ/ g Planta). Calculados en base a la ecuación de la recta $A = 0,0014C + 0,0144$; obtenida a través de la curva de calibración realizada con estándar de quercetina elaborada con soluciones a concentraciones de 20,40,60,80 y 100 ppm. Con un coeficiente de relación de $R^2 = 0,999$. (Barrera 2017)

Los resultados fueron obtenidos al despejar la concentración a través de la ecuación de la recta, reemplazando el valor de la absorbancia y multiplicando el resultado por el factor de dilución.

2.10.2 Análisis del contenido de fenoles totales

- Se preparó el extracto etanólico de las hojas de *Zea mays* a una concentración de 600 ppm
- Se tomó una alícuota de 250 μ L de extracto de hojas de *Zea mays* y se llevó a un matraz aforado de 25 mL.

- Posteriormente se agregó en el balón aforado 15 mL de agua destilada y 1,25 mL del reactivo de Folin.
- Se procedió a homogenizar en agitador vórtex por 30 segundos y dejar en reposo por 8 minutos.
- Se adicionó 3,75 mL de una solución de Carbonato de sodio al 7,5%.
- Se aforó con agua destilada a volumen, se homogenizo en agitador vórtex por 5 segundos y se dejó en reposo en la obscuridad por 2 horas.
- Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 765nm.

El ensayo se realizó por triplicado y el contenido de fenoles totales de expresó como miligramos equivalente de Ácido Gálico por gramos de Planta seca (mg GAE/g Planta)

Los resultados se obtuvieron al despejar la concentración en la ecuación de la recta, reemplazando el valor de la absorbancia y finalmente se multiplicó los valores por los factores de dilución empleados.(Figuerola-c *et al.*, 2018, p. 277)

2.10.3 *Determinación de la capacidad antioxidante*

- Para este ensayo se preparó el reactivo DPPH, pesando 6.9 g del reactivo y aforando a 250 mL con metanol al 99.9%. Para estabilizar el reactivo DPPH, se midió a intervalos de tiempo a una longitud de onda de 517 nm usando como blanco metanol puro.
- Se preparó extractos de hojas de Zea mays con etanol al 96% a concentraciones de 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 ppm.
- Posteriormente se colocó en un tubo de ensayo 3,9 mL de reactivo DPPH y 0,1 mL de la muestra a las distintas concentraciones.
- Se colocó en el baño maría a una temperatura de 37 °C durante 30 minutos y protegido de la luz.
- Transcurrido este tiempo de dejó enfriar a temperatura ambiente y protegido de la luz
- Finalmente se procedió a la lectura de la absorbancia de cada una de las muestras a una longitud de onda de 517 nm, usando como blanco una solución de 3,9 mL de Metanol y 0,1 mL de Etanol al 99%

Para el cálculo de los resultados en porcentaje de inhibición de los radicales libres DPPH, se usó la siguiente fórmula de acuerdo a (Costa *et al.*, 2015, p. 414)

$$I\% = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \times 100$$

Donde:

%I= Porcentaje de inhibición de los radicales libres

Abs control= Absorbancia de la muestra de la reacción control que contienen los reactivos excepto de prueba.

Abs muestra= Absorbancia del extracto a distintas concentraciones de las hojas de *Zea mays*

2.11 Determinación de la seguridad del extracto etanólico de hojas de *Zea mays*

2.11.1 Prueba de irritación ocular in vitro (HET-CAM)

El ensayo HET-CAM, es un método alternativo al a la prueba Draize. Esta prueba permite la identificación de reacciones irritativas, que parecen ser similares a las que ocurren en el ojo usando la prueba de ojo de conejo Draize estándar. En el sistema de prueba HET-CAM, se determinan tres reacciones, a saber, hemorragia, lisis y coagulación de la membrana corioalantoidea del huevo de gallina fertilizado en el décimo día de la embrionación cuando el tejido nervioso y la percepción del dolor aún no se han desarrollado. Muchos estudios han demostrado la utilidad de esta prueba para predecir el carácter no irritante de una sustancia con una buena capacidad para diferenciar sustancias irritantes y no irritantes. Es aplicable en productos cosméticos, así como en los ingredientes utilizados en su composición. (Tahar, Derouiche y Abdenmour, 2017, p. 1-2)

- Para este ensayo previamente se incubaron 15 huevos de gallina fértiles en una incubadora digital con volteo automático por 10 días.
- Al cabo de este tiempo se procedió a la apertura de la cámara de aire del huevo, hasta avanzar a la membrana corioalantoidea.
- Se añadió sobre la membrana corioalantoidea 300 uL de agua destilada (Usando como blanco), registrando la reacción de hemorragia, lisis o coagulación en segundos.
- El proceso se repitió con la apertura de huevos y colocando en la membrana corioalantoidea Hidróxido de sodio 0,1 M (Usado como Control positivo) y con los extractos preparados previamente de *Zea mays* a concentraciones de 250, 500 y 912 ppm. (Costa et al. 2015)
- El ensayo se realizó por triplicado y los datos obtenidos se analizaron en la siguiente fórmula:

$$I.I. = \left(\left(\frac{301 - H}{300} \right) * 5 \right) + \left(\left(\frac{301 - L}{300} \right) * 7 \right) + \left(\left(\frac{301 - C}{300} \right) * 9 \right)$$

Dónde:

I.I.= índice de irritación ocular

H= Tiempo de aparición de hemorragia

L= Tiempo de aparición de lisis

C= Tiempo de aparición de coagulación

- Para clasificar al extracto de acuerdo a las categorías de irritación se usó las especificaciones de la tabla siguiente:

Tabla 3-2 Categoría de Irritación ocular de acuerdo al rango HET-CAM

Rango HET-CAM	Categorías de Irritación
0-0,9	No irritante
1,0-4,9	Irritante leve
5,0-8,9	Irritante moderado
9,0-21,0	Irritante severo

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Fuente: (Camones, Guerra y Castañeda 2013)

2.12 Barrido espectrofotométrico del extracto etanólico de hojas de *Zea mays*

Este ensayo se realizó para evaluar la longitud de onda que cubre en el espectro el extracto. Para lo cual se preparó el extracto a una concentración de 912 ppm, se midió en un espectrofotómetro UV Visible en un intervalo de longitud de onda de 200 a 400 nm y finalmente se obtuvo el espectro para su posterior análisis.

2.13 Formulación de cremas Fotoprotectoras

Tabla 4-2 Formulaciones Fotoprotectoras a base de extracto de *Zea mays*

Componentes	Propiedad	Formulaciones (%)			
		F 1	F 2	F 3	F 4
Fase Oleosa (A)					
Cera de abeja grado cosmético	Emoliente/emulsificante /formador de película	6,7	6,7	6,7	6,7
Acido esteárico	Emulsificante/ estabilizador de emulsiones	6,7	6,7	6,7	6,7
Alcohol cetílico	Emoliente/emulsificante	5	5	5	5
Manteca de cacao	Emoliente	3,3	3,3	3,3	3,3
Aceite de oliva	Emoliente/ tensoactivo	10	-	-	-
Aceite de aguacate	Emoliente/ tensoactivo	-	10	-	-
Aceite de coco	Emoliente/ tensoactivo	-	-	10	-
Aceite de girasol	Emoliente/ tensoactivo	-	-	-	10

Estearato de sacarosa	Emulsificante/ acondicionador de la piel	3,3	3,3	3,3	3,3
Vitamina E	Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02
Lecitina	Emulsificante	3,3	3,3	3,3	3,3
Fase Acuosa (B)					
Glicerina	Humectante	4,3	4,3	4,3	4,3
Metilparabeno	Conservante	0,15	0,15	0,15	0,15
Extracto Vegetal	Principio activo/Antioxidante	5	5	5	5
Agua	Vehículo	csp 100 mL	csp 100 mL	csp 100 mL	csp 100 mL

Realizado por: Johanna Morales, 2018

- Todos los componentes de la fase oleosa (A) descritos en la tabla 4-2 se fundieron a una temperatura de 60°C en baño maría.
- Posteriormente se mezclaron todos los componentes de la fase acuosa (B) descritos en la tabla 4-2, a una temperatura de 60°C
- Se vertió la fase acuosa sobre la fase oleosa con agitación constante, para lograr la formación de la emulsión homogénea.
- Finalmente se envasó la crema en recipientes herméticos y sépticos.

2.14 Determinación de la efectividad de las formulaciones

2.14.1 Determinación del factor de protección solar *in vitro* de las cremas

- Para la preparación de la muestra de ensayo se pesó 5 gramos de cada una de las cremas y se aforó con etanol en un balón de 100 mL
- Se procedió con la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro UV Cole Parmer S-21590 usando celdas de cuarzo de 1 cm a un rango de longitud de onda de 290 a 320 nm, con intervalos de 5nm; es decir se midió a 290, 295, 300, 305, 310,315 y 320 nm.
- El ensayo se realizó por triplicado y como blanco se usó etanol
- Los datos de absorbancia obtenidos se aplicaron finalmente en la Ecuación de Mansur para calcular el Factor de protección Solar de cada protector solar, procediendo de la misma manera que en la determinación del Factor de protección solar de los extractos (Costa *et al.*, 2015, p. 415)

2.15 Determinación de la seguridad de la crema fotoprotectora

2.15.1 Prueba de tinción de la membrana corioalantoidea con azul tripán (CAM-TBS)

CAM-TBS es un método cuantitativo para la evaluación de la toxicidad de las formulaciones. La prueba CAM-TBS usa azul tripán como indicador de lesión vascular de membrana corioalantoidea (CAM) al entrar en contacto con la formulación y muestra una buena correlación con la prueba de irritación ocular Draize *in vivo* (Mansur *et al.*, 2016, p. 254). El ensayo se aplicó a la formulación que presentó el Factor de protección más alto.

Las muestras se prepararon pesando 5 gramos de la crema, y disolviéndola con agua destilada, para lograr la aplicación del Protector solar en la membrana corioalantoidea.

- Al igual que en la prueba de irritación celular se dejó incubar 15 huevos fértiles por el lapso de 10 días en una incubadora digital con volteo automático.
- Al cabo de este tiempo se procedió a la apertura de la cámara de aire del huevo, hasta avanzar a la membrana corioalantoidea.
- Se colocó cuidadosamente sobre la membrana corioalantoidea un anillo de goma con la finalidad de limitar el área de exposición.
- Se añadió 300 uL de la crema por un 20 segundos y se lavó con suero fisiológico
- Luego se colocó 500 uL del colorante azul de tripán por un minuto y se lavó esta vez con agua destilada con el fin de eliminar la mayor cantidad de colorante posible.
- Posteriormente se procedió a cortar la membrana corioalantoidea con ayuda de un bisturí y pinzas.
- Se lavó la membrana (CAM) nuevamente con agua destilada para eliminar el exceso de colorante y se pesó la misma en una balanza analítica.
- Se colocó la membrana en un tubo de ensayo con 5 mL de metilformamida.
- Se centrifugó el tubo de ensayo a 1500 rpm por el período de 5 minutos.
- Finalmente se midió las absorbancias en un espectrofotómetro, usando celdas de cuarzo de 1cm, a una longitud de onda de 595 nm; usando como blanco metilformamida.
- Como control positivo se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente, con la adición de Hidróxido de sodio 0,1 M en lugar del extracto. Como control negativo se siguió el mismo procedimiento sin la adición de la formulación.
- Para el cálculo de la cantidad de colorante absorbido se aplicó la siguiente fórmula:

$$TBS = b \times 5/1000 \times 10^9 \text{ nmoles}$$

Dónde:

TBS= Concentración de colorante absorbido

b= Absorbancia obtenida / peso de la membrana

- Finalmente se comparó los resultados con la siguiente tabla:

Tabla 5-2 Clasificación de las sustancias de acuerdo al potencial irritante determinado por el método CAM-TBS

Cantidad de colorante absorbido	Categoría
$\leq 0,100$ nmoles/mg	No Irritante
0,100-0,150 nmoles/mg	Irritante Moderado
$\geq 0,150$ nmoles/mg	Irritante Severo

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Fuente: (García *et al.*, 2004, p. 104)

2.16 Control de calidad de la crema fotoprotectora

2.16.1 Medición del pH de la crema fotoprotectora

El pH es un parámetro que determina el grado de alcalinidad o de acidez de un producto cosmético, en función de los iones hidrógeno. Este ensayo es importante dentro del control de calidad de la crema fotoprotectora, ya que al estar en contacto con la piel, debe cumplir con parámetros de pH en un rango similar al de la piel (oscila entre 4,7 y 5,7). (Tsakovska *et al.*, 2017, p.37)

Para este ensayo se dispersó aproximadamente 1g de la crema fotoprotectora, en 10 mL de agua destilada y se midió con ayuda de un electrodo de vidrio a una temperatura de 20°C

2.16.2 Determinación del olor de la crema fotoprotectora

Se introdujo un extremo de una tira de papel filtro en la muestra de ensayo de fotoprotector, posteriormente se percibió y se identificó el parámetro de olor que presentó la crema.

2.16.3 Determinación del color de la crema fotoprotectora

Se colocó en un tubo de ensayo limpio y seco la muestra de ensayo de fotoprotector hasta las tres cuartas partes del mismo y se identificó el color y el aspecto de la emulsión.

2.16.4 Determinación de la presencia de grumos de la Crema Fotoprotectora

Para este ensayo se tomó con los dedos una cantidad pequeña de crema y se aplicó en el dorso de la mano con la finalidad de detectar la presencia de grumos en la formulación.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

3.1 Control de calidad de la materia vegetal

Tabla 1-3 Ensayos del control de calidad de las hojas de *Zea mays*

Ensayo	Resultados para <i>Zea mays</i>	Límites aceptados (USP # 35)
Humedad	8,6 ± 0,52%	8-14%
Cenizas totales	4,7± 0,035%	12%
Cenizas solubles en H₂O	2,5 ± 0,38 %	7%
Cenizas insolubles en HCL	1,5 ± 0,3 %	5%

Realizado por: Johanna Morales, 2018

3.1.1 Ensayo de humedad

El ensayo de humedad realizado por el método gravimétrico, basado en la desecación de la droga vegetal dio como resultado 8,6% de humedad relativa, valor que cumple con los límites aceptados para porcentaje de humedad de la USP (8-14%), para su conservación.

3.1.2 Determinación de cenizas totales

El ensayo se determinó por el método gravimétrico y se trata de la obtención del residuo inorgánico presente en el material vegetal al someterlo a la incineración.

El contenido de cenizas es un valor que indica la calidad de la droga vegetal, ya que si este está fuera del rango aceptado se presume de una contaminación con metales pesados o sílice, tierra, entre otros agentes. El resultado descrito en la tabla 1-3, para cenizas totales fue de 4,7%, valor que se halla dentro de los límites preestablecidos por la USP, donde se permiten valores para

cenizas totales hasta un 12%; lo que permite descartar la presunción de contaminación de la droga vegetal.

3.1.3 *Determinación de Cenizas solubles en H₂O*

La determinación de cenizas solubles en H₂O nos permite conocer el contenido de materia orgánica presente en la droga vegetal. En la tabla 1-3 se puede apreciar el resultado de este parámetro para hojas de *Zea mays* que es de 2,5% y se encuentra dentro de los límites establecidos por la USP (hasta 7%), por lo tanto se demuestra un contenido bajo de materia orgánica.

3.1.4 *Determinación de Cenizas insolubles en HCl*

El resultado obtenido para cenizas insolubles en ácido clorhídrico, para hojas de *Zea mays* fue de 1,5%, valor establecido dentro de los límites permitidos por la USP donde se indica un máximo de 5% para éste ensayo. Dicho resultado demuestra que no existe evidencia representativa de contenido de tierra silíceo o arena en la muestra vegetal.

3.2 Estudio fitoquímico de la droga vegetal

La tabla 2-3 presenta los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico para los distintos extractos, tomando en cuenta que existen ensayos que no aplican para cierto extracto por el tipo de solvente empleado.

Los metabolitos identificados cualitativamente en el extracto etéreo son: aceites y grasas; mediante el ensayo Sudán, triterpenos y esteroides; a través del ensayo de Lieberman- Burchard.

Los metabolitos identificados cualitativamente en el extracto alcohólico; de mayor interés en la investigación son: triterpenos y esteroides; a través del ensayo de Lieberman- Burchard, catequinas, compuestos fenólicos; mediante el ensayo de cloruro férrico, flavonoides; mediante el ensayo Shinoda, y Antocianidinas. Y finalmente en el extracto acuoso se pudieron identificar: azúcares reductores por medio del ensayo de Fehling, compuestos fenólicos, flavonoides y mucílagos.

Los metabolitos de mayor importancia identificados en los extractos de hojas de *Zea mays* son los flavonoides y compuestos fenólicos, que otorgan actividad antioxidante, mecanismo de protección solar de fotoprotectores naturales; corroborando los estudios sobre actividad fotoprotectora de *Zea mays* realizados por (Barrera 2017)

Tabla 2-3 Resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de hojas de *Zea mays*

ENSAYO	METABOLITO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Sudán	Aceites y grasas	+	N/A	N/A
Dragendorff	Alcaloides	-	-	-
Mayer	Alcaloides	-	-	-
Wagner	Alcaloides	-	-	-
Balget	Lactonas y coumarinas	-	-	N/A
Lieberman- Burchard	Triterpenos y esteroides	+++ (Verde oscuro-negro)	+++ (Verde oscuro-negro)	N/A
Catequinas	Catequinas	N/A	+	N/A
Resinas	Resinas	N/A	-	N/A
Fehling	Azucares reductores	N/A	-	+
Espuma	Saponinas	N/A	-	-
Cloruro Férrico	Compuestos fenólicos	N/A	+++ (Verde intenso)	++ (Verde intenso)
Borntrager	Quinonas	N/A	-	N/A
Shinoda	Flavonoides	N/A	++	++
Antoncianidina	Antoncianidina	N/A	+	N/A
Mucilagos	Mucílagos	N/A	N/A	+
Ninhidrina	Nbihidrina	N/A	-	N/A

(+++)
Realizado por:

Abundante
Johanna Morales, 2018

(++) Moderado

(+) Escaso

(-) Ausencia

(N/A) No aplica

3.3 Determinación del FPS de los extractos de las hojas de *Zea mays*

En este ensayo se prepararon cinco extractos. En el primero se usó como solvente etanol al 96% y no se realizó ningún tratamiento, para el segundo extracto también se usó como solvente etanol al 96%, y posteriormente se realizó un desengrasado con hexano, con la finalidad de eliminar compuestos de gran peso molecular lipófilos y aclarar el extracto, el tercero se preparó con etanol al 70%, el cuarto y el quinto extractos se prepararon con acetato de etilo.

Una vez obtenidos los extractos se evaporó el solvente, para re-disolverlos a concentraciones de 20, 200, 400 y 500 ppm. Para esto se usó como solvente etanol 96% en el caso de los extractos 1, 2,3 y 4; para el extracto 5 se usó acetato de etilo.

Tabla 3-3 Resultados del cálculo de FPS a distintas concentraciones de los extractos de *Zea mays*

Extracto	Solvente	Concentración (ppm)	FPS
1	Etanol al 96% ND	20	0,9
		200	11
		400	22
		500	28
2	Etanol al 96% D	20	1
		200	10
		400	21
		500	26
3	Etanol al 70%	20	0,4
		200	3
		400	7
		500	9
4	Acetato de etilo	20	1
		200	11
		400	26
		500	33
5	Acetato de etilo 2	20	1
		200	13
		400	28
		500	35

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Como se puede apreciar en la tabla 3-3, el Factor de protección solar es directamente proporcional a la concentración de los extractos, estos datos se pueden corroborar con los resultados obtenidos en el estudio de Barrera, 2017.

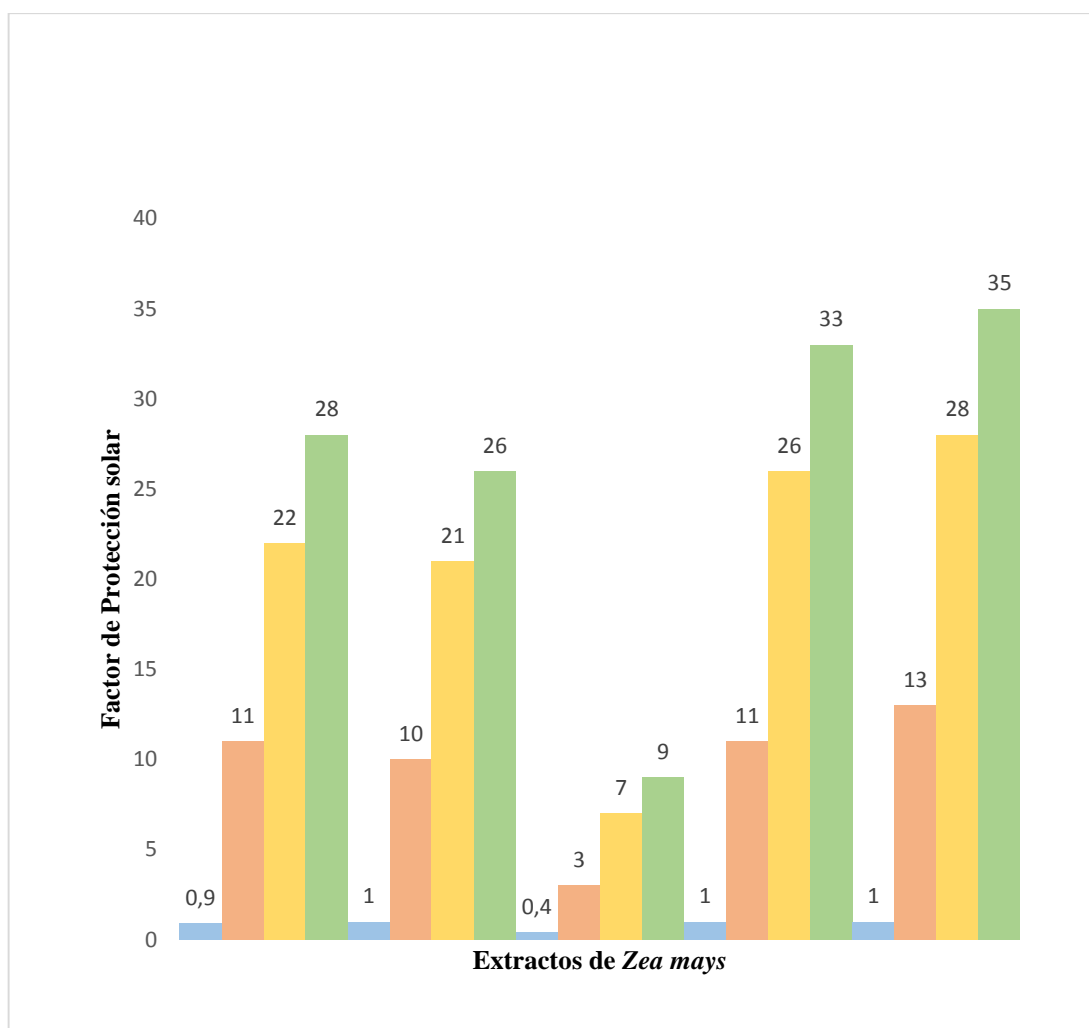


Gráfico 1-3 Factor de protección solar de los distintos extractos de *Zea mays*

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Los extractos que presentaron el FPS más alto a una concentración de 500 ppm son el 4 y 5, esto se puede deber a una extracción de componentes lipófilos que pueden contribuir a la foto protección sin embargo no se escogieron debido a que el solvente acetato de etilo, no está recomendado para uso en cosméticos por su alta corrosividad, y porque no es de fácil adquisición.

Se eligió el extracto etanólico al 96% no desengrasado con un Factor de protección de 28 a 500ppm (Grafico 1-3), este resultado es debido a que los componentes que le dan la actividad fotoprotectora al extracto son de carácter polar como los flavonoides.

Una vez elegido el extracto se continuó con la determinación de su concentración y con los ensayos de control de calidad del mismo.

3.4 Factor de protección solar *in vitro* extracto etanólico de hojas de *Zea mays*

Tabla 4-3 Factor de protección solar *in vitro* del extracto etanólico al 96% ND de *Zea mays*

Concentración (ppm)	FPS
20	1,2
200	11,1
400	22,2
500	28,0
912	50

Realizado por: Johanna Morales, 2018

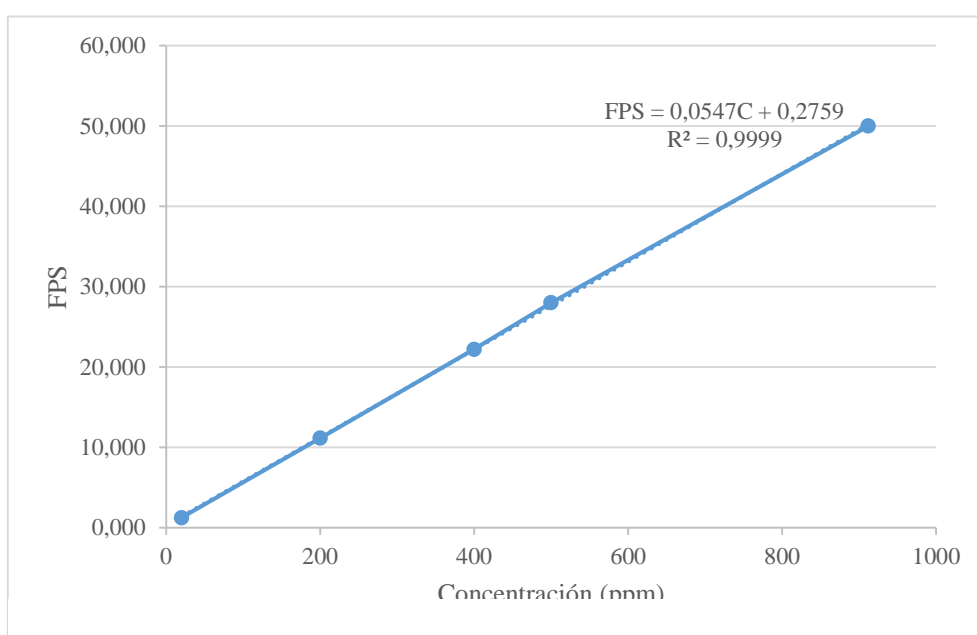


Gráfico 2-3 Curva de calibración para determinar la concentración de extracto

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Para el cálculo de la concentración del extracto etanólico para la obtención de un FPS 50 se elaboró una curva de calibración que relaciona la concentración del extracto (ppm) y el factor de protección solar con un valor de correlación de 0,9999 (Gráfico 2-3) y se interpoló calculando una concentración de 912 ppm. Esta concentración se usa para el resto de ensayos en la investigación incluyendo para la elaboración de las formulaciones fotoprotectoras. (Sánchez, Mori-arismendi y Paucar 2014)

3.5 Control de calidad del extracto etanólico

3.5.1 Características organolépticas

Tabla 5-3 Parámetros organolépticos del extracto etanólico al 96% de *Zea mays*

PARÁMETROS	EXT. ALCOHOLICO <i>Zea mays</i>
OLOR	HERBAL
COLOR	VERDE OSCURO
SABOR	DULCE
ASPECTO	LÍQUIDO

Realizado por: Johanna Morales, 2018

La tala 5-3 muestra los resultados obtenidos para la valoración de parámetros organolépticos del extracto etanólico al 96% de *Zea mays*, donde se determina un olor característico herbal, color verde oscuro: debido al contenido de clorofila en sus hojas, aspecto líquido y sabor dulce; este último se debe al porcentaje representativo de almidón y azúcares de que posee el maíz. (Sánchez, Mori-arismendi y Paucar 2014)

3.5.2 Parámetros físicos

Tabla 6-3 Parámetros físicos del extracto etanólico al 96% de *Zea mays*

PARÁMETROS	EXT. ALCOHOLICO <i>Zea mays</i>
DENSIDAD	0,81
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1,36
GRADOS BRIX	21
pH	6,36

Realizado por: Johanna Morales, 2018

En referencia a los resultados descritos en la Tabla 6-3, el pH obtenido para el extracto de hojas de *Zea mays* es de 6,36; lo que representa una ligera acidez para el mismo. El índice de refracción fue de 1,36, grados brix de 21 y en densidad se obtuvo un valor de 0,81; lo que demuestra que existen solutos provenientes de la droga vegetal.

3.5.3 Contenido de Flavonoides totales

Tabla 7-3 Absorbancias del estándar de Quercetina

Concentración (ppm)	Absorbancia
20	0,044
40	0,07
60	0,098
80	0,126
100	0,157

Realizado por: Johanna Morales, 2018

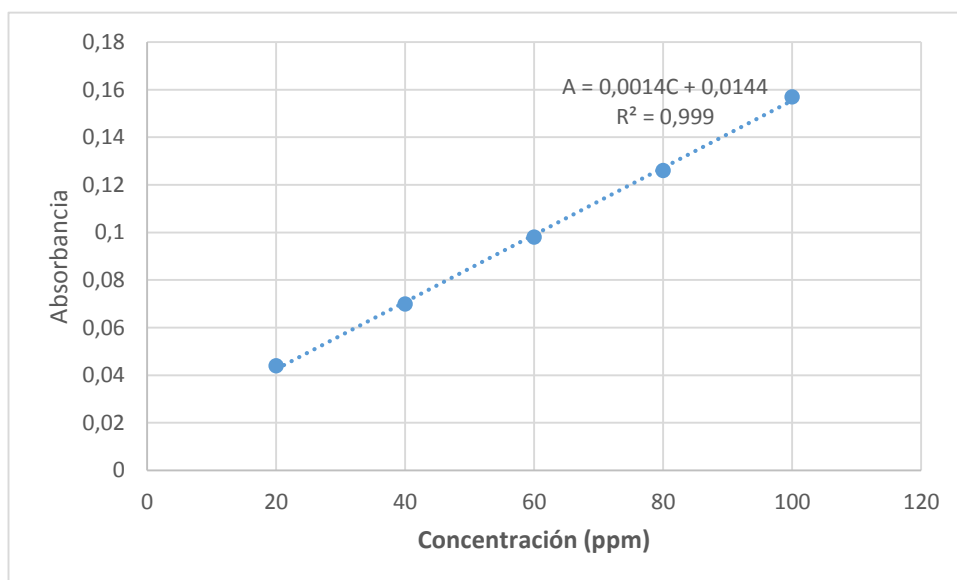


Gráfico 3-3 Curva de calibración de Quercetina

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Tabla 8-3 Contenido de Flavonoides totales en hojas de *Zea mays*

SUSTANCIA FOTOPROTECTORA	FLAVONOIDES TOTALES mg Equivalentes de Quercetina / g de Planta
Extracto etanólico (hojas de <i>Zea mays</i>)	88.2 ±1,27

Realizado por: Johanna Morales, 2018

El ensayo de contenido de flavonoides totales fue determinado por el método espectrofotométrico con AlCl_3 ; para lo cual se realizó una curva de calibración de quercetina (estándar) de donde se tomó como referencia la ecuación de la recta: $A=0,0014C+0,0144$ con un coeficiente correlación de: $R^2= 0,999$, (Grafico 3-3) con la finalidad de medir el extracto etanólico de *Zea mays* a una concentración, idónea para obtener absorbancias con valores que se encuentren dentro de la curva de calibración del estándar de quercetina.

De este modo se realizó el ensayo con una concentración del extracto de 400 ppm obteniendo los resultados descritos en la tabla 7-3, donde se expresó el contenido total de flavonoides en 88.2 mg Equivalentes de Quercetina/ g de Planta. Este resultado comprueba cuantitativamente la existencia de Flavonoides totales en las hojas de *Zea mays*, revelada ya anteriormente a través del estudio fitoquímico de manera cualitativa. En un estudio realizado por, (Balasubramanian Kiruthika y Palghat Raghunathan Padma, 2013), se encontró que los extractos de hojas de *Zea mays*, recolectadas a temprana edad luego de su germinación tenían la máxima actividad antioxidante por la presencia de fenoles y flavonoides.

3.5.4 *Contenido de Fenoles totales*

Tabla 9-3 Absorbancias del estándar de ácido gálico

Concentración (ppm)	Absorbancia
20	0,023
40	0,041
60	0,061
80	0,082
100	0,103

Realizado por: Johanna Morales, 2018

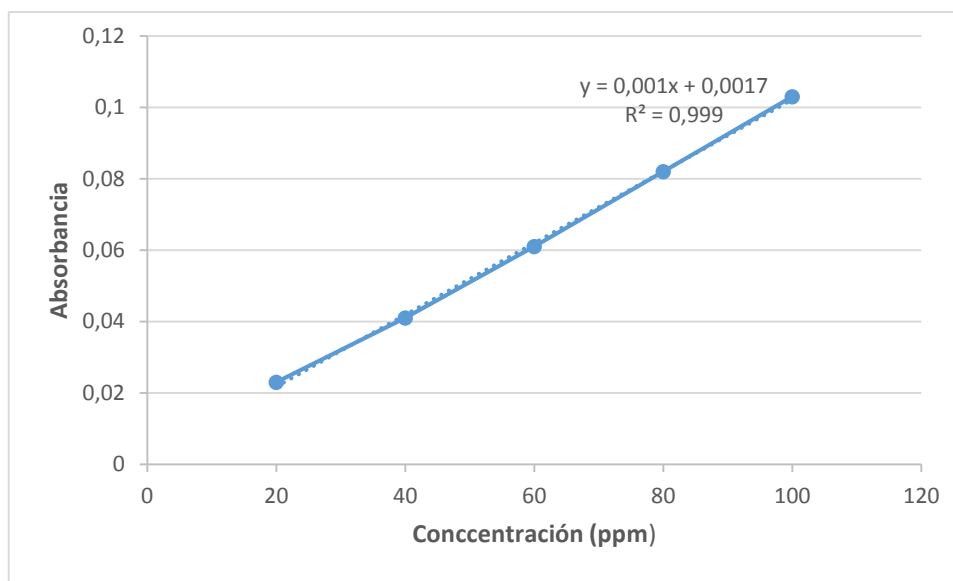


Gráfico 4-3 Curva de calibración de Ácido gálico

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Tabla 10-3 Contenido de Fenoles totales en hojas de *Zea mays*

SUSTANCIA FOTOPROTECTORA	FENOLES TOTALES mg Equivalentes de Ácido Gálico / g de Planta
Extracto etanólico (hojas de <i>Zea mays</i>)	446,64 ±1,9

Realizado por: Johanna Morales, 2018

El ensayo de contenido de fenoles totales fue determinado por el método espectrofotométrico con el reactivo Folin al 20%; para lo cual se realizó una curva de calibración de Ácido gálico (estándar) de donde se tomó como referencia la ecuación de la recta: $A=0,001C+0,0017$ con un coeficiente correlación de: $R^2= 0,999$, con la finalidad de medir el extracto etanólico de *Zea mays* a una concentración, idónea para obtener absorbancias con valores que se encuentren dentro de la curva de calibración del estándar de ácido gálico.

En un estudio realizado por, (Balasubramanian Kiruthika y Palghat Raghunathan Padma, 2013), se encontró que los extractos de hojas de *Zea mays*, recolectadas a temprana edad luego de su germinación tenían la máxima actividad antioxidante por la presencia de fenoles y flavonoides.

Varias investigaciones han reportado los beneficios para la salud de los compuestos fenólicos encontrados en *Zea mays*, estos compuestos orgánicos son sintetizados en las plantas como un mecanismo de defensa frente a la radiación UV y exhiben actividades antioxidantes,

antimutagénicas, antimicrobianas y antiinflamatorias, y pueden usarse en el control de la obesidad y la hipertensión, la prevención de enfermedades coronarias y la pérdida de la visión. y disminuyendo el riesgo de cáncer (Figuerola-c et al. 2018).

3.5.5 Actividad antioxidante

Tabla 11-3 Porcentaje de captación del radical libre DPPH* del extracto etanólico de *Zea mays*

% de Captación de Radical Libre DPPH*		
Concentración, ug/mL	Extracto etanólico al 96% de <i>Zea mays</i>	Ácido Gálico
10	4,23± 0,23	22,55±2,78
20	5,34± 0,41	34,73±5,41
50	6,10± 0,12	76,86±5,59
100	8,22±0,47	89,59±0,79
200	11,09±0,29	90,48±0,44
500	14,61±0,29	91,29±0,15
1000	32,04±2,11	92,17±0,76
IC ₅₀	NC	23,27±1,64

Realizado por: Johanna Morales, 2018

La actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Zea mays* se determinó a través de la capacidad del extracto para inhibir el radical estable DPPH* (2,2- difenil-1-picrilhidrazil libre), sustrato comúnmente usado para la evaluación rápida de la actividad antioxidante debido a su estabilidad y simplicidad de ensayo. La capacidad de eliminación de DPPH de los antioxidantes se debe a la capacidad de donar hidrógeno. El DPPH es un radical libre estable a base de nitrógeno, que produce un color violeta en la solución etanólica y acepta un radical de electrones o hidrógeno para convertirse en una molécula diamagnética más estable. Cuando se mezcla una solución DPPH con un donante de átomo de hidrógeno, se encuentra una forma estable no radical de DPPH con cambio simultáneo de color de violeta a amarillo pálido. Este ensayo proporciona información confiable sobre la actividad antioxidante de los compuestos probados. Es posible correlacionar la reducción en el número de moléculas de DPPH con el número de grupos hidroxilo de la muestra que se estudia. (Rahman et al. 2014)

El porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH* del extracto etanólico de *Zea mays* se muestra en la Tabla 11-3, a distintas concentraciones; 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 ppm, donde se puede apreciar que la concentración del extracto es directamente proporcional al porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH*, es decir los valores del porcentaje de inhibición aumentan a medida que aumenta la concentración. En estudios similares como el realizado por: (Moudache *et al.*, 2016) se compara la capacidad inhibitoria de los extractos en porcentaje con un estándar. En el presente estudio se realiza la comparación con el ácido gálico, demostrando que el extracto hojas de *Zea mays* actúa como un eficiente secuestrante de radicales libres, ratificando los resultados obtenidos en el contenido de flavonoides y fenoles totales a los que se les atribuye la actividad antioxidante.

3.6 Seguridad del extracto etanólico de hojas de *Zea mays*

3.6.1 Prueba de Irritación ocular HET-CAM

Tabla 12-3 Índice de Irritación ocular para el extracto etanólico de *Zea mays*

Tratamiento	Tiempo de reacción (Segundos)			RANGO HET- CAM	Categoría de Irritación
	Hemorragia	Lisis	Coagulación		
NaOH	25	30	83	11,7	Irritante Severo
H₂O	301	301	301	0,00	No Irritante
250 ppm	301	301	301	0,00	No Irritante
500 ppm	301	301	301	0,00	No Irritante
912 ppm	301	301	301	0,00	No Irritante

Realizado por: Johanna Morales, 2018

La prueba *in vitro* de Irritación ocular HET-CAM, determina la seguridad del extracto etanólico de *Zea mays*. Se basa en cambios observables que se producen en la membrana corioalantoidea del huevo de gallina; estos cambios se pueden apreciar como hemorragia, lisis y coagulación. La prueba HET-CAM demostró que el extracto etanólico de *Zea mays* a una concentración de 912 ppm presentan un potencial de irritación: 0,00; clasificándolo de este modo como no irritante e indicando que dicho extracto es adecuado para su uso en cosméticos (Tabla 12-3). Los informes

sobre las evaluaciones toxicológicas de las especies de los géneros *Zea* no se encontraron en la literatura, sin embargo las hojas de maíz son consumidas como alimento, considerando que ésta planta no es tóxica.

3.7 Barrido espectrofotométrico

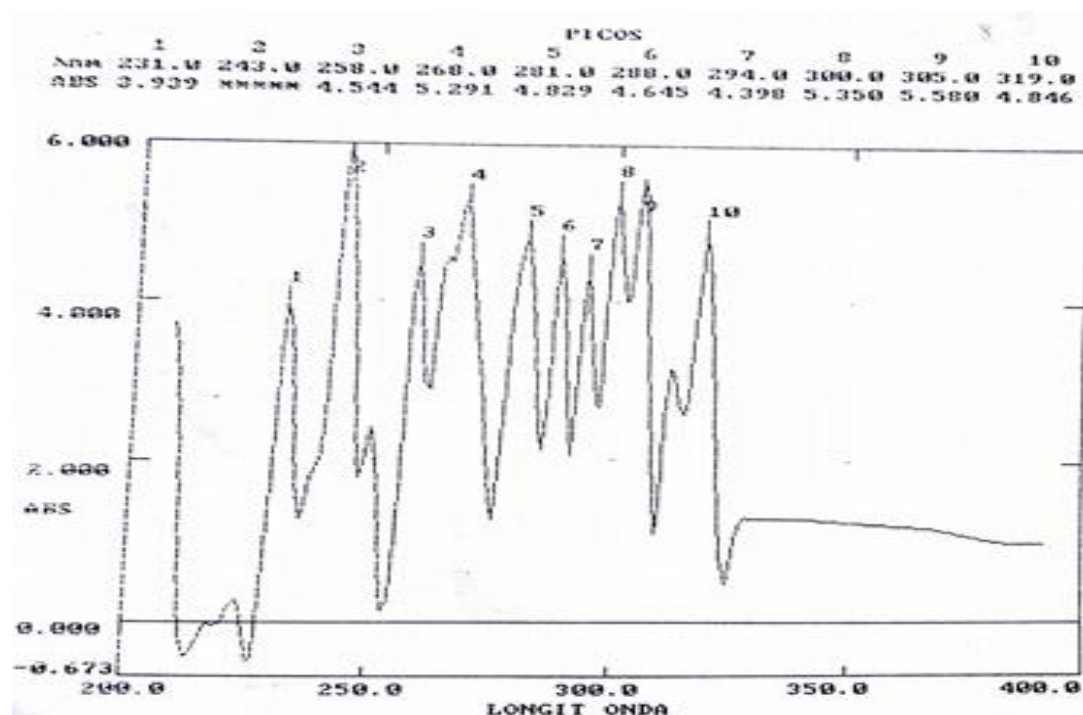


Gráfico 5-3 Barrido espectrofotométrico del extracto etanólico de *Zea mays*

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Este ensayo se realizó para determinar que longitud de onda cubre los componentes activos del extracto en el espectro del UV visible. Como se puede observar en el gráfico 5-3, los componentes polifenólicos del extracto etanólico de hojas de *Zea mays* absorben radiación con varios picos y muy altos a una longitud de onda entre 231 y 319 nm, longitud descrita en la zona del UVB, radiación solar que causa mayor daño a la piel, este resultado es propio de las plantas C4, en cuyo grupo se encuentra el maíz; ya que requieren de luz solar con mayor energía para realizar el proceso de fotosíntesis.

3.8 Eficacia de las formulaciones fotoprotectoras

3.8.1 Factor de protección solar de las Formulaciones

Tabla 13-3 Factor de protección de solar de las formulaciones fotoprotectoras y su Nivel de protección

FORMULACIÓN	FPS	NIVEL DE PROTECCIÓN (OMS)
F1 (Aceite de Oliva)	30,00±1,10	Muy Alto
F2(Aceite de Aguacate)	18,80±1,00	Alto
F3 (Aceite de Coco)	9,80±0,40	Medio
F4 (Aceite de Girasol)	7,65±0,25	Medio

Realizado por: Johanna Morales, 2018

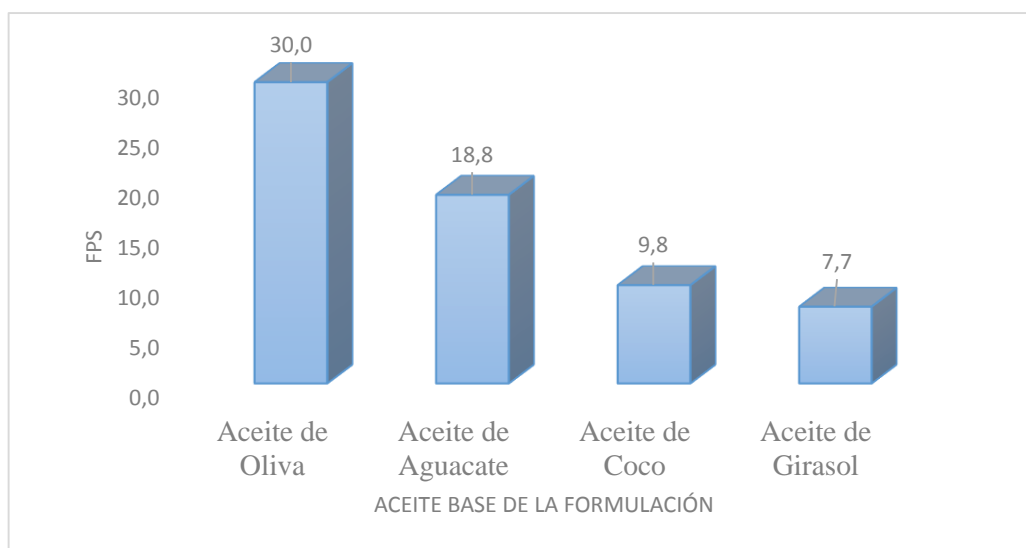


Gráfico 6-3 Comparación el Factor de protección solar de las distintas formulaciones

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Se elaboraron cuatro formulaciones de cremas fotoprotectoras con la variación del tipo de aceite empleado, en la formulación 1, se empleó aceite de oliva, en la formulación 2 se añadió aceite de aguacate, en la formulación 3 se empleó aceite de coco y finalmente en la formulación 4 se usó aceite de girasol. Con la finalidad de evaluar el factor de protección, considerando que los aceites vegetales son fuentes ricas en poli fenoles que pueden contribuir al efecto foto protector de las formulaciones

Los resultados obtenidos en la medición del factor de protección de las cremas fotoprotectoras se pueden apreciar en la tabla 13-3; donde se presenta el factor de protección para cada formulación

y su clasificación acorde a la OMS, así para la formulación 1 (Aceite de oliva), se obtuvo un FPS de 30,0 considerado como muy alto, para la formulación 2 (Aceite de aguacate), un FPS de 18,8 catalogado como Alto, en la formulación 3 (Aceite de coco), un FPS de 9,8 clasificado como nivel medio al igual en la formulación 4 (Aceite de girasol) con un FPS de 7,6.

La formulación 1 que presentó un FPS más alto (Gráfico 6-3) se elaboró con aceite de oliva, este resultado se puede explicar con los estudios realizados por (Moudache *et al.*, 2016), donde se evalúa la actividad antioxidante de extracto de oliva, demostrando una alta inhibición de radicales libres, por lo tanto ésta potenció gracias al efecto sinergia la actividad fotoprotectora del extracto de *Zea mays* a 912 ppm incorporado a la crema; obteniendo un producto con un factor de protección catalogado como Muy alto por la OMS. La formulación 4 elaborada con aceite de girasol presenta el FPS más bajo debido a que este aceite es refinado por lo cual ya no posee polifenoles.

3.9 Formulación del Protector solar FPS 30

Tabla 14-3 Formulación (1) Protector solar FPS 30

Componentes	Propiedad	Porcentaje	Cantidad permitida por la FDA (%)
Fase oleosa			
Cera de abeja	Emoliente/emulsificante/F ormador de película	6,7	3,5
Acido esteárico	Emulsificante / estabilizador de emulsiones	6,7	22
Alcohol cetílico	Emoliente/emulsificante	5	6
Manteca de cacao	Emoliente	3,3	N/A
Aceite de oliva	Emoliente/ tensoactivo	10	27
Estearato de sacarosa	Emulsificante/ Acondicionador de la piel	3,3	7
Vitamina E	Antioxidante	0,02	0,02
Fase Acuosa			
Glicerina	Humectante	4,3	4
Metilparabeno	Conservante	0,15	0,15
Extracto Vegetal	Principio activo/Antioxidante	5	5
Fragancia	Aromatizante	0,2	N/A
Agua destilada	Vehículo	csp 100 mL	N/A

Realizado por: Johanna Morales, 2018

La formulación escogida, se describe en la Tabla 14-3, donde se explica la propiedad que presentan cada uno de los componentes usados, el porcentaje en peso de cada uno y la cantidad permitida por la FDA, en relación a esta última se puede destacar que todos los componentes cumplen o están dentro del porcentaje permitido para formulaciones cosméticas.

También es importante considerar que la mayoría de ingredientes usados son de origen natural a excepción del conservante usado para prolongar la vida útil de la crema.

3.10 Seguridad de Cremas fotoprotectoras a base de extracto etanólico de hojas de *Zea mays*

3.10.1 Prueba de membrana corioalantoidea-tinción con azul tripán HET-CAM TBS

Tabla 15-3 Resultados del ensayo HET-CAM TBS y su clasificación

	Cantidad de colorante absorbido	Clasificación
Agua Destilada (Control negativo)	0,00±0,00	No irritante
Hidróxido de sodio (Control positivo)	0,15±0,02	Irritante severo
Crema fotoprotectora Formulación 1	0,00±0,00	No irritante

Realizado por: Johanna Morales, 2018

Esta prueba permitió evaluar de manera cuantitativa la toxicidad de la crema foto protectora elaborada a base de extracto etanólico de *Zea mays*, utilizando el colorante azul de tripán, para poder distinguir células vivas y muertas. En este método, se cuantifica la cantidad de colorante azul de tripán absorbido por la membrana corioalantoidea dañada y de esta forma permite su clasificación como no irritante, irritante moderado e irritante severo. En el caso de la crema fotoprotectora con Formulación 1 se determinó una cantidad de colorante absorbido de 0,00 lo que la clasifica según la Norma COLIPA como no irritante, ratificando el ensayo de irritación HET-CAM, realizado con el extracto y se evidencia que los componentes usados en la formulación son de origen natural, no son corrosivos a la piel y demuestran un potencial uso sin causar daño celular a la piel.

No se han encontrado en bibliografía ensayos similares con la misma planta, sin embargo éste método de evaluación de toxicidad para productos cosméticos ya se ha realizado con buenos resultados, ya que evita el uso de animales de experimentación, tiene una buena correlación con el test Draize (García *et al.*, 2004) y se ha demostrado a través de estudios que la aplicación de la muestra en el décimo día cuando se ha formado solo la membrana corioalantoidea vascularizada del huevo de gallina mas no el sistema nervioso del mismo; por lo cual no causa dolor ni sufrimiento para el embrión.

3.11 Control de calidad de Cremas fotoprotectoras

Tabla 16-3 Parámetros organolépticos y físicos de la crema fotoprotectora

Parámetro	Resultado
pH	5,6
Olor	Fragancia Natural Lavanda-Limón
Color	Amarillo pastel
Presencia de Grumos	Negativo

Realizado por: Johanna Morales, 2018

3.11.1 Medición del pH de la crema fotoprotectora

El resultado obtenido de pH para la crema fotoprotectora, es de 5,6, que se puede considerar idóneo para el producto ya que no difiere del pH normal de la piel que oscila entre 4,7 y 5,7, cumpliendo también los límites especificados en la USP; de este modo la crema no va a producir alteraciones en el manto ácido de la piel.

3.11.2 Determinación del olor de la crema fotoprotectora

Este parámetro es importante en cuanto a la potencial aceptación del Protector solar, ya que las personas también se preocupan por el aroma, la Crema presentó una fragancia Natural a Lavanda Limón, proveniente del Aromatizante empleado en la formulación.

3.11.3 Determinación del color de la crema fotoprotectora

El color que presenta la crema fotoprotectora es amarillo pastel este color se logró obtener gracias a variaciones en la formulación ya que el extracto de *Zea mays* incorporado, le confiere un color verde intenso. De este modo la crema fotoprotectora lograría una mayor aceptación para su uso.

3.11.4 Determinación de la presencia de grumos en la crema fotoprotectora

En el ensayo para evaluar la presencia de grumos en la crema fotoprotectora se obtuvo como resultado negativo, lo que indica que la emulsión es homogénea.

CONCLUSIONES

1. El control de calidad realizado a la droga vegetal y extracto alcohólico demostró que estos cumplen con los límites establecidos por la USP. En el tamizaje fitoquímico de la droga vegetal se evidenció la presencia de compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides, catequinas, flavonoides y antocianidinas.
2. El extracto alcohólico de hojas de *Zea mays* demostró actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* atribuible al alto contenido de flavonoides (88.2 mg EQ/g Planta) y fenoles totales (446,64 mg EAG/ g Planta). Mediante la prueba *in vitro* de irritación ocular HET-CAM, se confirmó su seguridad, clasificándolo como no irritante y siendo ideal para incluirlo en una formulación fotoprotectora.
3. Se determinó del factor de protección solar (FPS) *in vitro* de las cremas fotoprotectoras mediante espectrofotometría aplicando la ecuación de Massur: siendo la formulación 1, elaborada a base de extracto etanólico de hojas de *Zea mays* y potenciada con aceite de oliva, la ideal; ya que presentó un factor de Protección de 30,00 ($\pm 1,10$), catalogado por la OMS como nivel de protección Muy Alto.
4. La evaluación de la calidad de la crema fotoprotectora se realizó en base a tres aspectos: La eficacia a través de la valoración del Factor de protección solar; catalogado como muy alto, la seguridad mediante la prueba de membrana corioalantoidea-tinción con azul tripán HET-CAM TBS, donde se evaluó de manera cuantitativa la toxicidad de la crema fotoprotectora elaborada a base de extracto etanólico de *Zea mays*, catalogándola según COLIPA como no irritante, evidenciando que la crema no presenta toxicidad y es segura para su uso tópico, y finalmente se midió parámetros organolépticos y físicos que determinaron el aspecto de la emulsión, importante para la aceptación.

RECOMENDACIONES

1. En cuanto a la formulación se recomienda el uso de componentes de grado cosmético para lograr las características idóneas de la crema fotoprotectora.
2. En el ensayo de irritación ocular es recomendable, mantener en observación diaria el huevo de gallina en incubación con la finalidad de detectar la formación de la membrana corioalantoidea, manteniendo siempre las condiciones de humedad, movimiento y temperatura.
3. Se recomienda realizar ensayos de estabilidad del protector solar, para poder establecer el tiempo de vida útil y éste pueda ingresar al mercado.
4. Se recomienda realizar pruebas microbiológicas de la crema fotoprotectora, necesarias para asegurar que el producto esté en óptimas condiciones y que se elaboró con la asepsia adecuada.
5. Impulsar en la Institución, la creación de un comité de ética, indispensable para la realización del ensayo de Fotoprotección *in vivo*, con personas voluntarias, para poder ratificar los ensayos *in vitro* realizados en el presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

ARROYO, J., RAEZ, E., RODRÍGUEZ, M., CHUMPITAZ, V., BURGA, J., WALTER, D. la C. y VALENCIA, J., 2008. Actividad antihipertensiva y antioxidante del extracto hidroalcohólico atomizado de Maíz morado (*Zea mays* L) en ratas. [en línea], vol. 25, no. 2, pp. 195-199. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342007000200010.

AWAD, F., ASSRAWI, E., LOUVRIER, C., JUMEAU, C., GIURGEA, I., AMSELEM, S. y KARABINA, S.,. Photoaging and skin cancer: is the inflammasome the missing link? *Mechanisms of Ageing and Development* [en línea], 2018, [Consulta: 10 marzo 2018] ISSN 0047-6374. DOI 10.1016/j.mad.2018.03.003. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0047637417301355>.

BALASUBRAMANIAN, K., DEVI, S. y RAGHUNATHAN, P.,. Zea mays leaf extracts protects primary chick embryo fibroblast cells from apoptosis induced by hydrogen peroxide in vitro. *JOPR: Journal of Pharmacy Research* [en línea], 2013, 6(6), pp. 638-646. [Consulta: 11 marzo 2018] ISSN 0974-6943. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0974694313002466>.

BALASUBRAMANIAN KIRUTHIKA y PALGHAT RAGHUNATHAN PADMA,. Zea mays leaf extracts protect *Saccharomyces cerevisiae* cell against oxidative stress-induced cell death. *Journal of Acute Medicine* [en línea], 2013 3(3), pp. 83-92. ISSN 2211-5587. [Consulta: 11 marzo 2018] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacme.2013.06.005>.

BARRERA, A.,. *Determinación de la actividad fotoprotectora in vitro DE Zea mays*. [en línea]. 2017 S.l.: s.n. [Consulta: 11 marzo 2018] Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6838/1/56T00727.pdf>.

BATLLE, C., 2005. Factor de protección solar. *Dermofarmacia*, vol. 24.

BRENNER, M. y HEARING, V., 2009. The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin. [en línea], vol. 84, no. 3, pp. 539-549. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671032/>.

CAMONES, M.Á.I., GUERRA, E.M.T. y CASTAÑEDA, B.C., 2013. Efecto irritante in vitro de formulaciones cosméticas con extracto de camu camu , mediante el método Het Cam . [en línea], Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3716/371637129003.pdf>.

CAÑARTE, C., SALUM, G., IPIÑA, A. y PIACENTINI, R., 2011. Índice ultravioleta como indicador de riesgo en la piel. [en línea], vol. 1, no. 3, pp. 1-26. Disponible en: <http://antoniorondonlugo.com/blog/wp-content/uploads/2010/05/87-Indice-ultravioleta-como-indicador-de-riesgo-en-la-piel.pdf>.

COSTA, S.C.C., DETONI, C.B., BRANCO, C.R.C., BOTURA, M.B. y BRANCO, A., 2015. In vitro photoprotective effects of Marcetia taxifolia ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [en línea], vol. 25, no. 4, pp. 413-418. ISSN 0102-695X. DOI 10.1016/j.bjp.2015.07.013. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.013>.

ENRIQUEZ, J., 2014. *Evaluación de extractos de tabaco y paraíso (melia azedarach l.) para el control del gusano cogollero (Spodoptera frugiperda s.) en el cultivo de maíz (Zea mays L.)* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: [http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/12494/1/Jose Vicente Enríquez Silva.pdf](http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/12494/1/Jose%20Vicente%20Enrriquez%20Silva.pdf).

EXA, 2008. El Informe HIPERIÓN. [en línea]. S.l.: Disponible en: http://exa.ec/INFORME-HIPERION_files/INFORME-HIPERION.pdf.

FERRAMOLA DE SANCOVICH, H.S., 2013. INTERACTIONS OF ELECTROMAGNETIC

RADIATIONS AND REACTIVE OXYGEN SPECIES ON SKIN. [en línea], pp. 113-120. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/rad/v87n2/v87n2a05.pdf>.

FERRARO GRACIELA, MARTINO VIRGINIA, BANDONI ARMANDO, N.J., 2015. *Fitocosméticos; Fitoingredientes y otros Productos Naturales* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=9uBDDAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT7&dq=Farmacognosia+y+productos+naturales+pdf&ots=xl0VDbD5eU&sig=MOjAkCZaEL8ZnC61D5twHGO1pyk#v=onepage&q&f=false>.

FIGUEROA-C, J.D.D., ZAVALA-L, M., SERNA-SALDÍVAR, S.O. y GARCÍA-LARA, S., 2018. Screening of major phenolics and antioxidant activities in teosinte populations and modern maize types. [en línea], vol. 79, pp. 276-285. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605009611>.

GARCÍA, L., GLEIBY, M., MONTES DE OCA, M. y HIDALGO, L., 2004. Estudio de la irritación ocular y dérmica de *Pochonia chlamydosporia* var . *catenulata*. *Revista de Toxicología*, pp. 103-107.

GILABERTE, Y. y GONZA, Ñ.S., 2010. Novedades en fotoprotección. [en línea], vol. 101, no. 8, pp. 659-672. DOI 10.1016/j.ad.2010.04.003. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001731010002760>.

GUERRA, A., 2018. Indicaciones y aplicaciones de la fotoprotección. *Revista de la educación superior* [en línea], vol. 12, no. 47, pp. 2811-2814. ISSN 0304-5412. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541217303153>.

HU, S., ZHANG, X., CHEN, F. y WANG, M., 2017. Dietary polyphenols as photoprotective agents against UV radiation. *Journal of Functional Foods* [en línea], vol. 30, pp. 108-118. ISSN 1756-4646. DOI 10.1016/j.jff.2017.01.009. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617300099>.

KRAUSE, M., FREDERIKSEN, H., SUNDBERG, K., JØRGENSEN, F.S., JENSEN, L.N. y NØRGAARD, P., 2018. Presence of benzophenones commonly used as UV filters and absorbers in paired maternal and fetal samples. *Environment International* [en línea], vol. 110, no. October 2017, pp. 51-60. ISSN 0160-4120. DOI 10.1016/j.envint.2017.10.005. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.005>.

LEÓN, Z., 2014. *Percutaneous Absorption of UV Filters Contained in Sunscreen Cosmetic Products* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=_O-3BAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=Percutaneous+Absorption+of+UV+Filters+Contained+in+Sunscreen+Cosmetic+Product&ots=w6rdR500f3&sig=Y5ZfokiSnomlrtq4THissRS2hvs#v=onepage&q&f=true.

LÓPEZ, T., 2007. Fitocosmética solar. *Ámbito Farmacéutico Fitoterapia*, vol. 26.

MANSUR, M., GUIMARÃES, S., CERQUEIRA, C., VERMELHO, A., SILVA, R., PRESGRAVE, O., LEITÃO, Á., LEITÃO, G., RICCI-JÚNIOR, E. y SANTOS, E., 2016. In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [en línea], vol. 26, no. 2, pp. 251-258. ISSN 0102-695X. DOI 10.1016/j.bjp.2015.11.006. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.11.006>.

MARÍN, D. y DEL POZO, A., 2005. Fototipos cutáneos. Conceptos generales. *Farmacia Práctica* [en línea], vol. 24, pp. 136-137. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-fototipos-cutaneos-conceptos-generales-13074483>.

MIRANDA, M. y CUÉLLAR, A., 2012. *Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana: s.n.

MORA, M., OLIVARES, R., GONZALEZ, M. y CASTRO, I., 2010. ¿EL SOL ¿ENEMIGO DE NUESTRA PIEL? [en línea], vol. 14, no. 6, pp. 825-837. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v14n6/san14610.pdf>.

MOUDACHE, M., COLON, M., NERÍN, C. y ZAIDI, F., 2016. Phenolic content and antioxidant activity of olive by-products and antioxidant film containing Olive Leaf extract. *Food Chemistry* [en línea], pp. 1.33. ISSN 0308-8146. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616308913>.

NATIONAL, J. of the cancer institute, 2003. Nueva lista de carcinógenos incluye estrógenos, radiación ultravioleta. [en línea]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jnci/article/95/3/185/2520572>.

OMS, 2013. Índice UV Solar Mundial. [en línea], pp. 1-23. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42633/1/9243590073.pdf?ua=1>.

ORTEGA, I.S. y CARRIL, E.P., 2014. Maíz I (*Zea mays*). [en línea], vol. 7, no. 2, pp. 151-171. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/1739/1776>. ISSN: 1989-3620.

PEREZ, F. y FRAGA, C., 2018. Research trends in flavonoids and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [en línea], ISSN 0003-9861. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986118301474>.

QUERO, G. de, 2018. Reseña Histórica y Geográfica del Cantón Quero. , pp. 3-5.

RAHMAN, M., HABIB, R., HASAN, A., AMIN, M. Al, SAHA, A. y MANNAN, A., 2014. Comparative assessment on in vitro antioxidant activities of ethanol extracts of *Averrhoa bilimbi*

, *Gymnema sylvestre* and *Capsicum frutescens*. , vol. 6, no. 1, pp. 36-42. DOI 10.4103/0974-8490.122915.

SALAZAR, M., 2017. *Sol y Cáncer de Piel*. Primera Ed. S.l.: s.n.

SÁNCHEZ, J., MORI-ARISMENDI, S. y PAUCAR, L., 2014. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L .). [en línea], vol. 5, pp. 211-217. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v5n4/a05v5n4.pdf>.

SANTHAKUMAR, A., BATTINO, M. y ALVAREZ, J., 2018. Dietary polyphenols : Structures , bioavailability and protective effects against atherosclerosis. [en línea], vol. 113, no. December 2017, pp. 49-65. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869151830022X>.

SCHALKA, S. y SILVA, V., 2011. Fator de proteção solar : significado e controvérsias. , pp. 507-515.

SOLCA, Q., 2017. *Incidencia de cáncer en Ecuador* [en línea]. 2017. S.l.: s.n. Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9740201e.pdf?expires=1498390862&id=id&accname=guest&checksum=185DCF2282AD24F3B8E7BBE52B933C5B>.

TAHAR, M., DEROUCHE, T. y ABDENNOUR, S., 2017. HET-CAM test . Application to shampoos in developing countries. *Toxicology in Vitro* [en línea], no. December 2016, pp. 1-4. ISSN 0887-2333. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233317301546>.

THOMÉ, O.W., 1885. *Flora von Deutschland Österreich und der Schweiz*. ,

TOHGE, T. y FERNIE, A.R., 2017. Leveraging Natural Variance towards Enhanced Understanding of Phytochemical Sunscreens. *Trends in Plant Science* [en línea], vol. xx, pp. 1-8. ISSN 1360-1385. DOI 10.1016/j.tplants.2017.01.003. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032591017306320>.




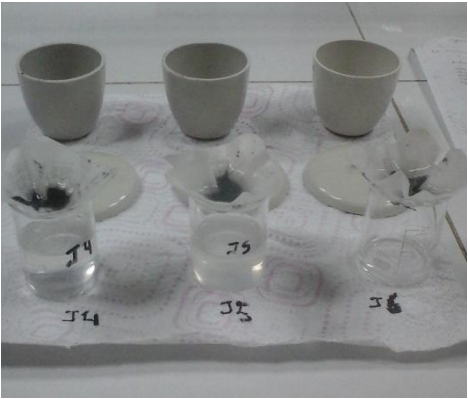

TRIVELLINI, A., LUCCHESINI, M., MAGGINI, R., MOSADEGH, H., SALOMÈ, T., VILLAMARIN, S., VERNIERI, P., MENSUALI-SODI, A. y PARDOSSI, A., 2016. Lamiaceae phenols as multifaceted compounds : bioactivity , industrial prospects and role of « positive-stress ». *Industrial Crops & Products* [en línea], vol. 83, pp. 241-254. ISSN 0926-6690. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015306269>.



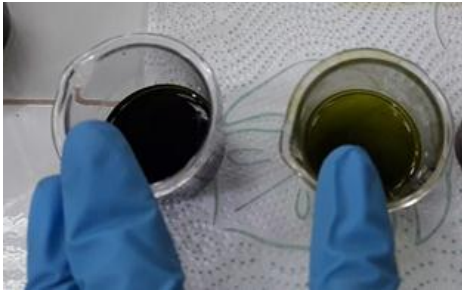



TSAKOVSKA, I., PAJEVA, I., SHARIF, M. Al, ALOV, P., FIORAVANZO, E., KOVARICH, S., WORTH, A.P., RICHARZ, A., YANG, C., MOSTRAG-SZLICHTYNG, A. y CRONIN, M.T.D., 2017. Quantitative structure-skin permeability relationships. *Toxicology* [en línea], vol. 387, no. June, pp. 27-42. ISSN 0300-483X. DOI 10.1016/j.tox.2017.06.008. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X17301750>.

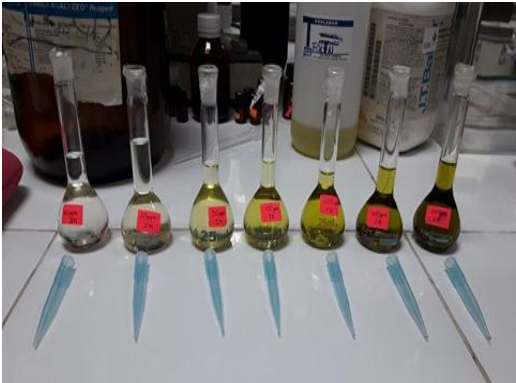





YOUNG, A.R., 2017. Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. [en línea], pp. 100-109. DOI 10.1016/j.jaad.2016.09.038. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962216308805>.

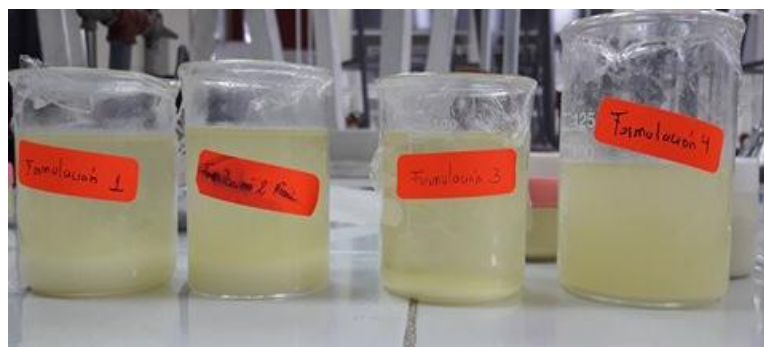
ANEXOS

Anexo A: Evidencias Fotográficas del proyecto de investigación.

Anexo A: Control de calidad de la droga vegetal	
	
Ensayo de humedad	Cenizas totales
	
Cenizas solubles en agua	Cenizas insolubles en HCl
Ensayo Fitoquímico	
	
Resultados cualitativos del ensayos Fitoquímico de <i>Zea mays</i>	

Determinación del FPS de los extractos de las hojas de <i>Zea mays</i>	
	
Preparación de los extractos	Medición del FPS
Control de calidad del extracto etanólico	
	
Parámetros Organolépticos	Parámetros físicos: densidad
	
Contenido de Flavonoides totales	Contenido de fenoles totales
Capacidad Antioxidante	

	
Preparación de los extractos a distintas concentraciones	Muestras con reactivo para la medición en el espectrofotómetro
Prueba de irritación ocular in vitro (HET-CAM)	
	
Control positivo	Extracto a 250 ppm
	
Extracto 500 ppm	Extracto 912 ppm
Factor de protección solar de las Formulaciones	



Preparación de las muestras para la medición del FPS

Formulación del Protector solar FPS 30



Preparación de la emulsión

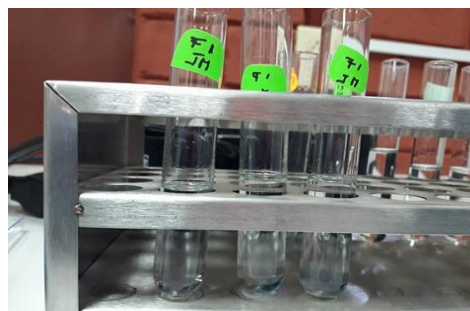


Formulación 1 (Con FPS 30)

Prueba de tinción de la membrana corioalantoidea con azul tripano (CAM-TBS)



Aplicación de la formulación



Medición de la cantidad de colorante